



UNIVERSITÉ SULTAN MOULAY SLIMANE
FACULTÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES
&
FACULTÉ POLYDISCIPLINAIRE
-BÉNI MELLAL-

ANNÉE : 2022

THÈSE N° :474/22

CENTRE DES ÉTUDES DOCTORALES SCIENCES ET TECHNIQUES
FORMATION DOCTORALE : RESSOURCES NATURELLES SANTE ET ENVIRONNEMENT

THÈSE DE DOCTORAT

Présentée par : Mme BOUIMEJA Btissam

Intitulée :

Évaluation des activités anti-oxydante, anti-inflammatoire et analgésique de *Thapsia garganica* L. et *Lactuca serriola* L. dans l'atténuation des effets des envenimations scorpioniques

Spécialité : Biologie et physiologie animales - Toxicologie

Soutenue publiquement le : 22/12/2022

Devant le jury composé de :

Présidente : F. CHIGR, PES, Faculté des Sciences et Techniques – Beni Mellal

Rapporteurs :

K. HABBARI, PES, Faculté des Sciences et Techniques – Beni Mellal

O. EL HIBA, PH, Faculté des Sciences – El Jadida

Examineurs :

S. BOUSSAA, PH, Institut Supérieur des Professions Infirmières et Techniques de Santé – Rabat

M.A. EL HIDAN, PH, Faculté des Sciences Appliquées – Ait Melloul

Invitée :

N. OUKKACHE, Docteur chargée de recherche à l'Institut Pasteur du Maroc – Casablanca

Encadrants :

O. TOULOUN, PH, Faculté Polydisciplinaire – Beni Mellal

H. BERROUGUI, PES, Faculté Polydisciplinaire – Beni Mellal

Fiche présentative de la thèse

- **Nom et prénom de l'auteur :** BOUIMEJA Btissam
- **Intitulé du travail :** Évaluation des activités anti-oxydante, anti-inflammatoire et analgésique de *Thapsia garganica* L. et *Lactuca serriola* L. dans l'atténuation des effets des envenimations scorpioniques.
- **Directeur de thèse :** Oulaid TOULOUN, Professeur d'Enseignement Supérieur, Equipe Polyvalente de Recherche et Développement EPVRD, Département de Biologie, Faculté Polydisciplinaire, Université Sultan Moulay Slimane, Beni Mellal.
- **Co-Directeur de thèse :** Hicham BERROUGUI, Professeur d'Enseignement Supérieur, Equipe Polyvalente de Recherche et Développement EPVRD, Département de Biologie, Faculté Polydisciplinaire, Université Sultan Moulay Slimane, Beni Mellal.
- **Laboratoires où les travaux ont été réalisés (intitulé et institution) :**
 - Équipe Polyvalente de Recherche et Développement EPVRD, Département de Biologie, Faculté Polydisciplinaire, Université Sultan Moulay Slimane, Beni Mellal, Maroc.
 - Laboratoire d'Ecologie et Environnement, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech 40000, Maroc.
 - Laboratoire de Biotechnologie, Protection et Valorisation des Ressources Végétales ; Unité de Phytochimie et Pharmacologie des Plantes Médicinales, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech 40000, Maroc.
- **Période de réalisation du travail de thèse :** 2016-2022.

Principales publications auxquelles ce travail a donné lieu :

- ✓ **Bouimeja, B.**, Boumezzough, A., Sellami, S., Rais, H., Ait Laaradia, M., El Hizazi, S., Echchakery, M., Ait Dra, L., Berrougui, H., Chait, A., Touloun, O., 2022. The anti-venom potential of methanolic and ethyl acetate extracts from *Thapsia garganica* root used in traditional medicine against scorpionic envenomation. Arabian journal of medicinal and aromatic plants. (Soumis).
- ✓ **Bouimeja, B.**, Boumezzough, A., Berrougui, H., Laaradia, M.A., Chait, A., Touloun, O., 2021. Evaluation of the lethal potency (LD₅₀) of Moroccan scorpion venoms of the genus *Buthus*. European journal of pharmaceutical and medical research, 8(8), 31-36.
- ✓ **Bouimeja, B.**, Yetongnona, K.H., Touloun, O., Berrougui, H., Laaradia, M.A., Ouanaïmia, F., Boumezzough, A., 2019. Studies on antivenom activity of *Lactuca serriola* methanolic extract against *Buthus atlantis* scorpion venom by in vivo methods. South African Journal of Botany, 125, 270-279.
- ✓ **Bouimeja, B.**, El Hidan, M.A., Touloun, O., Ait laaradia, M., Ait Dra, L., El khoudri, N., Chait, A., Boumezzough, A., 2018. Anti-scorpion venom activity of *Thapsia garganica* methanolic extract: Histopathological and biochemical evidences. Journal of Ethnopharmacology, no.211, pp 340-347. Doi :10.1016/j.jep.2017.10.003.

Communications nationales et internationales

- ✓ **5-8 September 2021: Bouimeja B.** El Hidan M.A., Berrougui H., Ait Laaradia M., Boumezzough A., Chait A., Touloun O., 2021. « Phytochemical study, chromatographic analysis and antioxidant activity of *Lactuca serriola* methanolic extract from the region of Elkalaa des Sraghna ». GA – 69th Annual Meeting of Society of Medicinal Plants and Natural Product Research Neumarkt, Germany (Affichée).
- ✓ **27-28 juillet 2021 : Bouimeja B.** El Hidan M.A., Berrougui H., Ait Laaradia M., Boumezzough A., Chait A., Touloun O., 2021. « Etude phytochimique et évaluation de l'activité anti-inflammatoire de la plante *Thapsia garganica* ». I^{er} Symposium International. Pharmacologie, Phytothérapie et Phytochimie des Plantes Aromatiques et Médicinales ». L'Ecole Supérieure de Technologie de Khénifra– Maroc (Orale).
- ✓ **12-14 juillet 2021: Bouimeja B.** El Hidan M.A., Berrougui H., Ait Laaradia M., Boumezzough A., Chait A., Touloun O., 2021. « Antivenom Potential of Methanolic Extract of *Thapsia garganica* Leaves against *Buthus occitanus* Scorpion Venom ». International Conference on Traditional Medicine and Phytochemistry. Australie (Orale).
- ✓ **26-28 Juin 2019 : Bouimeja B.** El Hidan M.A., Touloun O., Ait Laaradia M., Berrougui H., Chait A., Boumezzough A., 2019. « Protective effect of *Thapsia garganica* and its components against scorpion venom *Buthus occitanus* ». Congrès International 'Valorisation des Ressources Naturelles : De la Recherche Scientifique à la Faisabilité Socio-économique -VARENA 2019. à la Faculté des Sciences - Université Mohammed V de Rabat (Orale).
- ✓ **09-11 Mai 2018: Bouimeja B.** El Hidan M.A., Touloun O., Ait Laaradia M., Berrougui H., Chait A., Boumezzough A., 2018. "Species diversity of medicinal plants with antivenom capacity against scorpion species in Morocco" 3^{ème} Forum de la Recherche Scientifique à l'innovation de la FSSM. Marrakech (Affichée).
- ✓ **19-21 Avril 2018 : Bouimeja B.** El Hidan M.A., Touloun O., Ait Laaradia M., Berrougui H., Chait A., Boumezzough A., 2018. « Evaluation de l'activité antivenimeuse et étude du pouvoir neutralisant de l'extrait des racines d'*Aristolochia longa* sur le venin du scorpion *Buthus occitanus* ». Ecole Internationale de recherche- 6^{ème} édition. Agadir. (Orale).
- ✓ **06-10 Mars 2018: Bouimeja B.** El Hidan M.A., Touloun O., Ait Laaradia M., Berrougui H., Chait A., Boumezzough A., 2018. « Species diversity of medicinal plants with antivenom capacity against scorpion species in Morocco». 5th Young Natural History scientists Meeting. Paris. (Affichée). at the National museum of natural history (MNHN) – Paris (Affichée).
- ✓ **19-21 octobre 2017 : Bouimeja B.** El Hidan M.A., Touloun O., Ait Laaradia M., Chait A., Boumezzough A., 2017. « Les effets toxicologiques, histologiques et biochimiques du venin du scorpion *Buthus occitanus* chez la souris *Swiss* ». 1^{er} Congrès International de la SMETox sous le thème « L'Ecotoxicologie : de l'expérimentation à la gestion de l'environnement » Agadir (Orale).

- ✓ **15-17 Mai 2017: Bouimeja B.**, El Hidan M.A., Ait Laaradia M., Touloun O., Chait A., Boumezzough A., 2017. Contribution à la caractérisation des effets toxicologiques du venin du scorpion *Buthus Occitanus*. La 10èmes édition des Journées Scientifiques de l'Oriental, Saïdia-Maroc (Affichée).

Remerciements

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce travail.

Au terme de cette thèse, j'exprime mes sincères remerciements à tous ceux et celles qui de près ou de loin, m'ont accompagné et soutenue pour mener à bien ce travail de thèse. En effet, ce travail n'aurait pu se réaliser sans l'apport scientifique et moral de ces personnes qui m'ont entourée. Je voudrais tout d'abord remercier :

Prof. **Nabil HMINA**, Président de l'Université Sultan Moulay Sliman de Beni Mellal pour sa rigueur dans la gestion de l'Université et sa stratégie pour la formation de qualité des étudiants.

Prof. **Benachir EL HADADI**, Doyen de la Faculté Polydisciplinaire de Beni Mellal et Prof. **Said MELLIANI**, Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal pour le soutien qu'ils ne cessent d'accorder à la recherche scientifique au sein de leur établissement.

Prof. **Oulaid TOULOUN**, mon encadrant de thèse, pour sa confiance en acceptant de diriger mes travaux de recherche et en me faisant bénéficier de son expérience, ses encouragements, ses soutiens administratifs et académiques. Cher professeur, Soyez assuré de ma profonde gratitude pour votre disponibilité dans l'encadrement, votre rigueur et méthodologie dans le travail m'ont servi dans la réalisation de cette thèse, Je vous remercie aussi de m'avoir montré l'exemple dans la préparation et la rédaction de mes travaux. C'est grâce à vos qualités scientifiques et humaines, votre écoute, votre patience, que nous avons pu améliorer notre travail. Soyez assuré cher professeur de mon estime et de ma profonde gratitude.

Prof. **Hicham BERROUGUI** pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de diriger cette thèse, soyez remercié professeur pour le savoir que vous avez inculqué. Soyez assuré de ma reconnaissance et mon profond respect. Merci de m'avoir accordé votre confiance durant toutes ses années. Je vous adresse mes plus vifs remerciements pour votre aide, votre gentillesse, tous vos encouragements et soutien dans les moments difficiles.

Prof. **Ali BOUMEZZOUGH**, Co-encadrant de thèse pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire d'Ecologie et d'Environnement. Cher professeur recevez l'expression de ma profonde gratitude pour votre soutien et co-encadrement lors de mes travaux de recherche. Je vous remercie d'avoir mis à notre disposition du matériel et des produits nécessaires à la réalisation de cette thèse.

comportement à la faculté des sciences Semlalia Marrakech pour la confiance qu'il m'a accordée en m'acceptant dans son laboratoire. Je profite de l'occasion, pour lui exprimer mon profond respect et mon immense gratitude.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude aux membres de notre jury les professeurs, **F. CHIGR, K. HABBARI, O. EL HIBA, N. OUKKACHE, S. BOUSSAA** et **M.A. EL HIDAN** en acceptant de juger et d'examiner ce travail. Veuillez trouver ici chers professeurs, l'expression de mes sincères remerciements, je suis très reconnaissante de bien vouloir porter intérêt à ce travail.

Mes remerciements vont également au prof. **Moulay Abdelmonaim EL HIDAN**, d'avoir été mon tuteur pendant les premiers instants de cette recherche, merci pour votre soutien, votre patience, votre compréhension, votre gentillesse et votre participation à la réalisation de ce travail. Je vous exprime mes sincères remerciements.

Mes remerciements également à mon collègue du laboratoire **Mehdi Ait LAARADIA** pour sa contribution à mes travaux de recherche. Il m'a accompagné durant l'ensemble des analyses et des tests effectués au sein du laboratoire, merci pour sa disponibilité, je suis particulièrement reconnaissante de m'avoir accompagné dans toutes les étapes de ce travail.

Je tiens aussi à remercier Prof. **Hanane RAIS** chef de service Anatomie pathologie du Centre Hospitalier Universitaire Mohamed VI à Marrakech pour l'accueil chaleureux que vous m'avez toujours réservée dans votre Laboratoire, et je remercie aussi l'ensemble du personnel du laboratoire pour leur constante bonne humeur.

J'adresse mes remerciements à Dr. **Souad SELLAMI**, pour sa disponibilité et son aide dans la réalisation des coupes histologiques. Je tiens également à vous remercier pour vos conseils et votre sympathie qui m'a accompagnée durant cette étude.

Je tiens à remercier profondément Dr. **Loubna AIT DRA** de son investissement pour la réalisation de l'étude phytochimique incluse dans ce travail au Laboratoire de Biotechnologie, Protection et Valorisation des Ressources Végétales ; Unité de Phytochimie et Pharmacologie des Plantes Médicinales, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech.

Nous sommes immensément reconnaissants au Prof. **Ahmad OUHAMMOU** pour son aide dans la confirmation des espèces végétales et nous disposant de leur numéro de spécimen ; Je tiens également à remercier Prf. **BELAQZIZ Majdouline** et Dr. **BOUTAJ Hanane** pour leur aide et leur soutien dans la réalisation de l'analyse d'HPLC au Centre de Caractérisation et d'Analyse (CAC) Marrakech.

Je voudrais remercier également Monsieur **A. REGRAGUI** pour l'entretien de notre élevage d'animaux.

i

Je tiens aussi à remercier tous mes collègues doctorants du Laboratoire Polyvalent de Recherche et Développement (LPVRD) de la Faculté Polydisciplinaire - Beni Mellal, Je remercie aussi mes amis et mes collègues du Laboratoire d'Ecologie et de l'Environnement (LEE) de la Faculté des Sciences Semlalia - Marrakech qui m'ont apporté leur soutien intellectuel et moral tout le long de ce parcours. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et mon profond respect.

Dédicaces Dédicaces

Je dédie ce travail à L'âme de ma mère « El Ahmadi

Fatima », Maman ma réussite aujourd'hui est la tienne chez Allah

dans le paradis inchaallah Par les inestimables sacrifices que tu as

consentis pour moi, tu as tant souhaité que je parvienne à ce but.

A mon père « BOUMEDA Mohamed » qui est la source de ma

réussite Je te serais reconnaissante toute ma vie, qu'Allah t'accorde

une longue vie

A ma petite fille, mes frères et mes sœurs

Résumé

L'envenimation scorpionique demeure un réel problème de santé publique au Maroc, en particulier dans les régions centrales du pays où l'on en enregistre chaque année les incidences et les létalités les plus élevées surtout chez les enfants du bas âge.

L'importance de la phytothérapie dans le traitement des maladies, en particulier les envenimations scorpioniques, est étudiée pour le développement de nouveaux médicaments naturels. C'est dans ce contexte que s'intègre cette étude destinée à prévenir ce problème de scorpionisme. Elle a comme objectif d'étudier le pouvoir neutralisant du venin scorpionique par des plantes utilisées pour traiter l'envenimation scorpionique dans certaines régions enclavées du Maroc, à travers des études histologiques, biochimiques et certaines activités biologiques.

Afin d'identifier les plantes médicinales utilisées par les populations locales des zones d'endémie scorpionique au Maroc dans le traitement des envenimations scorpioniques une enquête ethnobotanique a été réalisée dans les régions Marrakech-Safi et Béni Mellal-Khénifra. Dans ce sens un questionnaire a été élaboré pour recueillir des renseignements auprès des cas piqués, sur le patient et sur le type de traitement utilisé contre ces envenimations réputées dangereuses,

Les extraits méthanoliques des feuilles, racines de la plante *Thapsia garganica* et des parties aériennes de la plante *Lactuca serriola* ont été obtenus par extraction à l'aide de l'appareil de soxhlet.

L'estimation des principaux constituants des plantes étudiées a été réalisée par le criblage phytochimique, la quantification et la qualification des polyphénols par l'HPLC.

L'activité antioxydante des extraits de plantes a été évaluée *in vitro* par les méthodes DPPH, l'inhibition du blanchiment de β -carotène et le pouvoir réducteur. Leur activité anti-inflammatoire a été évaluée en mesurant l'œdème plantaire des souris induit par la carragénine, aussi l'activité analgésique de ces plantes a été évaluée par test de contorsion, test au formol et test de la plaque chauffante chez des souris *swiss*. Ensuite nous avons testé, l'activité antivenimeuse des feuilles, racines de *Thapsia garganica* et des parties aériennes de la plante *Lactuca serriola* contre les venins des scorpions *Buthus occitanus* et *Buthus atlantis* à travers des changements histologiques des organes vitaux (cœurs, reins, foie et poumons), et biochimiques de certains marqueurs enzymatiques (ALAT, ASAT, LDH, CPK, Urée, Créatinine) des souris envenimées par voie sous cutanée par une DL₅₀ après 3h, et d'autres souris envenimées et traitées oralement par les extraits méthanoliques des plantes étudiées.

Notre étude ethnobotanique a permis d'inventorier 22 espèces de plantes appartenant à 14 familles. Parmi ces espèces *Thapsia garganica* et *Lactuca serriola* ont été les plus utilisées pour traiter les envenimations scorpioniques. Les feuilles et la partie aérienne entière sont les principaux organes utilisés avec une fréquence hautement significative de 30.43%. La décoction est le mode de préparation le plus sollicité et l'administration se fait majoritairement par voie orale (68.6%).

Nos résultats ont montré que les DL₅₀ respectives des venins de *B. occitanus* et *B. atlantis* administrés par voie sous cutanée de l'ordre de 0.524 mg/kg, 0.4 mg/kg. Les tests de neutralisation ont permis de montrer que la dose de 2g/kg d'extrait méthanolique de *L. serriola* est capable de neutraliser l'effet toxique induit par une injection sous cutanée de DL₉₉ du venin, avec un taux de 66.66%. Les analyses qualitatives et quantitatives révèlent que les extraits méthanoliques étudiés sont très riches en polyphénols avec le taux le plus élevé chez la plante *L. serriola* (31.816± 3.52 mg EAG/g ES), en flavonoïdes totaux (24.31± 0.56 mg EC/g ES) et en tannins (16.91 mg EC/g ES) pour l'extrait de *T. garganica*, et la confirmation de ces résultats a été faite par l'identification chromatographique via HPLC.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante a montré que les différents extraits présentent des activités antioxydantes intéressantes, surtout pour la plante *L. serriola* qui inhibe la β-carotène avec un taux de 73 ± 0.032 µg/ml. L'extrait des feuilles de *T. garganica* possèdent un effet piègeur remarquable vis-à-vis du radical DPPH, plus important que les autres extraits avec une concentration de 44.79± 0.003 µg/ml. Les propriétés anti-inflammatoires des extraits ont montré une réduction hautement significative de l'œdème ($P < 0,001$). L'étude de l'activité analgésique a montré une analgésie périphérique et centrale chez les extraits étudiés en inhibant très significativement la douleur induite par différents tests chez les souris ($P < 0,001$). Les études histologiques et biochimiques ont permis de mettre en évidence des dommages tissulaires et un déséquilibre enzymatique. D'ailleurs, l'administration des extraits étudiés a pu restaurer les structures hépatiques, cardiaques, pulmonaires et rénales.

T. garganica et *L. serriola* possèdent une activité antivenimeuse par le prolongement de la survie, le rétablissement des formes tissulaires normales et par la diminution significative ($p < 0,05$) des taux de certains marqueurs enzymatiques. Elles peuvent constituer des sources prometteuses à propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires et antalgiques dans le traitement des envenimations scorpioniques.

Mots clés : *B. occitanus*, *B. atlantis*, venin, *T. garganica*, *L. serriola*, ethnobotanie, toxicologie, histologie, biochimie

Abstract

Scorpionic envenomation remains a real public health problem in Morocco, especially in the central regions of the country where we record each year the highest incidences and lethality levels have been recorded, especially in children.

The present study aimed to contribute to the prevention and resolution of this problem. The main objective of the study is to assess the neutralizing power of the scorpion venom by plants used to treat the scorpion envenomation in certain enclave regions of Morocco.

To identify the medicinal plants used by the local populations of scorpion endemic areas in Morocco in the treatment of scorpion envenomations an ethnobotanical survey was conducted in the regions Marrakech-Safi and Beni Mellal-Khenifra. For this purpose, a questionnaire was developed and administered to herbalists and envenomed cases to collect information on the patient and the type of treatment used against these envenomations deemed dangerous.

The methanolic extracts of the leaves, roots of the plant *Thapsia garganica*, and the aerial parts of the plant *Lactuca serriola* were obtained by extraction using the soxhlet apparatus.

The investigation of the main constituents of the studied plants was performed by phytochemical screening, quantification, and qualification of polyphenols by HPLC.

The antioxidant activity of the plant extracts was evaluated *in vitro* by DPPH methods, β -carotene bleaching inhibition, and reducing power. Their anti-inflammatory activity was assessed by measuring the plantar edema of mice induced by carragenin. In addition, the analgesic activity of these plants was conducted by contortion test, formalin test, and hot plate test in *swiss* mice. The antivenom activity of leaves, roots of the plant *Thapsia garganica* and aerial parts of the plant *Lactuca serriola* against the venoms of scorpions *Buthus occitanus* and *Buthus atlantis* was tested through histological changes of vital organs (hearts, kidneys, liver, and lungs) and biochemical changes of some enzymatic markers (ALAT, ASAT, LDH, CPK, urea and creatinine) of envenomed mice by an LD₅₀ after 3h, and others envenomed and treated by oral route with the methanolic extracts of the studied plants.

The ethnobotanical study allowed us to inventory 22 species of plants belonging to 14 families. Among these species, *Thapsia garganica* and *Lactuca serriola* are the most used to treat

scorpion envenomations. The leaves and the whole aerial part are the main organs used with a highly significant frequency of 30.43%. The decoction is the mode of preparation the most solicited and the administration is done mainly by oral route (68.6%).

Our finding showed that the LD₅₀ of the venoms of *B. occitanus* and *B. atlantis* by subcutaneous route were 0.524 mg/kg, 0.4 mg/kg respectively. The neutralization tests showed that the dose of 2 g/kg of *L. serriola* methanolic extract is able to neutralize the toxic effect induced by a subcutaneous injection of LD₉₉ of the venom, with a rate of 66.66%. Qualitative and quantitative analyses revealed that the methanolic extracts studied are very rich in polyphenols with the highest level in the *L. serriola* plant (31.816 ± 3.52 mg EAG/g DE), in total flavonoids (24.31 ± 0.56 mg EC/g DE) and in tannins (16.91 mg EC/g DE) for the *T. garganica* extract, with confirmation made by chromatographic identification via HPLC.

The *in vitro* evaluation of antioxidant activity showed that the different extracts present interesting antiradical and antioxidant activities, especially *L. serriola* which inhibits β-carotene with a level of 73 ± 0.032 µg / ml. The extract of leaves of *T. garganica* has a remarkable scavenging effect towards the DPPH radical and is more important than the other extracts with a concentration of 44.79 ± 0.003 µg/ml. The anti-inflammatory properties of the extracts showed a highly significant reduction in edema ($P < 0.001$). The study of analgesic activity showed peripheral and central analgesia in the studied extracts, with significantly higher inhibition of pain induced by different tests in mice ($P < 0.001$). Histological and biochemical investigations revealed tissue damage and enzymatic imbalance. Moreover, the administration of the studied extracts was able to restore hepatic, cardiac, pulmonary, and renal structures. *T. garganica* and *L. serriola* have antivenom activity by stretching survival, restoring normal tissue forms, and significantly ($p < 0.05$) decreasing levels of certain enzymes.

The present study findings showed that *T. garganica* and *L. serriola* may constitute promising sources with antioxidant, anti-inflammatory, and analgesic properties in the treatment of scorpion envenomations.

Key words: *B. occitanus*, *B. atlantis*, venom, *T. garganica*, *L. serriola*, toxicology, histology, biochemistry

ملخص

لا يزال التسمم بلسعات العقارب يمثل مشكلة صحية عامة حقيقية في المغرب ، لا سيما في المناطق الوسطى من البلاد حيث يتم تسجيل أعلى معدلات الوفيات كل عام ، وخاصة بين الأطفال الصغار. للمساهمة في حل مشكلة لسعات العقارب، قمنا بهذا العمل، والهدف الرئيسي منه هو دراسة قوة تحييد سم العقرب بواسطة النباتات المستخدمة في علاج تسمم العقرب في بعض المناطق غير الساحلية بالمغرب.

من أجل التعرف على النباتات الطبية التي يستخدمها السكان المحليون في المناطق الموبوءة بلسعات العقارب في المغرب في علاج تسمم العقارب ، تم إجراء مسح نباتي في جهتي مراكش أسفي وبنى ملال خنيفرة. في هذا الإطار، تم إجراء استبيان مع المعالجين بالأعشاب والحالات التي تعرضت للسعات، لجمع معلومات عن المصابين ونوع العلاج المستخدم ضد هذه السموم المعروفة بخطورتها تم الحصول على المستخلصات الميثانولية لأوراق وجذور نبات *Thapsia garganica* والأجزاء الهوائية من نبات *Lactuca serriola* عن طريق الاستخلاص باستخدام جهاز Soxhlet. كما تم تقدير المكونات الرئيسية للنباتات المدروسة عن طريق الفرز الكيميائي النباتي ، والتقدير الكمي لمادة البوليفينول بواسطة HPLC. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات النباتية في المختبر باستخدام طرق DPPH ، وتثبيت تبيض البيتا كاروتين وتقليل الطاقة.

تم تقييم نشاط مضاد للالتهابات لهذه المستخلصات عن طريق قياس الونمة الأخصمية التي يسببها الكاراجينين في الفئران ، كما تم إجراء دراسة للنشاط المسكن لهذه النباتات عن طريق اختبار الالتواء واختبار الفورمالين واختبار الصفيحة الساخنة في الفئران السويسرية. ثم كذلك باختبار النشاط المضاد للسم لأوراق وجذور نبات *Thapsia garganica* والأجزاء الهوائية من نبات *Lactuca serriola* ضد سموم العقارب *Buthus atlantis* و *Buthus occitanus* من خلال التغيرات النسيجية في الأعضاء الحيوية (القلب والكلى والكبد و الرئتين) والمواد الكيميائية الحيوية لبعض الواسمات الأنزيمية (ALAT ، ASAT ، LDH ، CPK ، Urée ، Créatinine) عند فئران بعد 3 ساعات من تسميمها عبر المسار تحت الجلد بمقدار LD₅₀ ، وعند مجموعة أخرى من الفئران التي تم تسميمها ومعالجتها عن طريق الفم باستخدام المستخلصات الميثانولية للنباتات التي تمت دراستها.

أتاحت دراستنا جرد 22 نوعاً من النباتات التي تنتمي إلى 14 عائلة من بين هذه الأنواع ، تعتبر *Thapsia garganica* و *Lactuca serriola* أكثر الأنواع استخداماً لعلاج تسمم العقارب. الأوراق والجزء الهوائي بأكمله هي الأعضاء الرئيسية المستخدمة بتردد مرتفع يناهز 30.43٪. ويعتبر مستحضر الاعشاب هو أكثر طرق التحضير المطلوبة والذي يعطى بشكل رئيسي عن طريق الفم (68.6٪).

أظهرت نتائجنا أن الجرعة المميئة، LD₅₀ لسم *B. atlantis* و *B. occitanus* عن طريق المسار تحتجلد هي على التوالي 0.524 مجم / كجم ، 0.4 مجم / كجم. أظهرت اختبارات التحييد أن جرعة 2 جم / كجم من المستخلص الميثانولي من *L. serriola* قادرة على معادلة التأثير السام الناتج عن الحقن تحت الجلد من DL₅₀ من السم بنسبة 66.66٪. تكشف التحليلات النوعية والكمية أن المستخلصات الميثانولية التي تمت دراستها غنية جداً بالبوليفينول مع أعلى معدل في نبات *L. serriola* (31.816 ± 3.52 مجم EAG / مجم DM)، بإجمالي مركبات الفلافونويد (24.31 ± 0.56 مجم EC / مجم MS) و العفص (16.91 مجم EC / مجم MS) لمستخلص *T. garganica*.

أظهر التقييم في المختبر للنشاط المضاد للأكسدة أن المستخلصات المختلفة لها نشاط مثير للاهتمام كمضادات للأكسدة ، خاصة بالنسبة لنبات *L. serriola* الذي يثبط β-كاروتين بمعدل (0.032 ± 73 µg/ml). المستخلص من أوراق *T. garganica* له تأثير تنظيف ملحوظ على جذور DPPH وهو أكبر من المستخلصات الأخرى بتركيز (0.003 ± 44.79 ميكروغرام / مل). كمضاد للأكسدة، خاصة بالنسبة لنبات *L. serriola* الذي يثبط β-كاروتين بمعدل (0.032 ± 73 ميكروغرام / مل). المستخلص من أوراق *T. garganica* له تأثير تنظيف ملحوظ على جذور DPPH وهو أكبر من المستخلصات الأخرى بتركيز (0.003 ± 44.79 ميكروغرام / مل). أظهرت الخصائص المضادة للالتهابات للمستخلصات انخفاضاً كبيراً في الونمة ($P < 0.001$). أظهرت دراسة النشاط المسكن أن التسكين المحيطي والمركزي في المستخلصات المدروسة يثبط بشكل كبير الألم الناتج عن الاختبارات المختلفة في الفئران ($P < 0.001$). وبينت دراسة النشاط النسيجية والكيميائية الحيوية عن تلف الأنسجة واختلال التوازن الأنزيمي. علاوة على ذلك ، فإن إعطاء المستخلصات المدروسة كان قادراً على استعادة البنية الكبدية والقلبية والرئوية والكلى. وتتوفر *L. serriola* و *T. garganica* على نشاط مضاد للتسمم من خلال إطالة أمد الحياة واستعادة أشكال الأنسجة الطبيعية وتقليل مستوى بعض الإنزيمات بشكل ملحوظ ($P > 0.05$). من خلال هذه الدراسة ، قد تشكل *L. serriola* و *T. garganica* مصادر واعدة بمضادات الأكسدة وخصائص مضادة للالتهابات ومسكنات في علاج التسمم بلسعات العقارب.

الكلمات المفتاحية :

B. atlantis ، *B. occitanus* ، السم ، *L. serriola* ، *T. garganica* ، علم السموم ، الأنسجة ، الكيمياء الحيوية.

Liste des figures

Figure 1: Anatomie du scorpion <i>Androctonus australisen</i> vue dorsale et ventrale.....	7
Figure 2: Répartition et incidence des espèces de scorpions à l'échelle mondiale	8
Figure 3: Telson de scorpion.....	10
Figure 4: Incidence mondiale (pour 100000 habitants) des piqûres de scorpion	13
Figure 5: Cartes synthétiques de l'incidence des envenimations scorpioniques au Maroc.....	15
Figure 6: Localisation des deux régions étudiées.....	37
Figure 7: Les différents organes de <i>Thapsia garganica</i>	41
Figure 8: Feuilles, fleurs, fruits de la plante <i>Lactuca serriola</i>	43
Figure 9: Obtention des extraits de plantes étudiées à l'aide du Soxhlet	46
Figure 10: Souris mâles <i>Swiss</i>	52
Figure 11: Dispositif de la plaque chauffante	56
Figure 12: Souris lèche sa patte droite (b) après l'injection du formaldéhyde (a).....	57
Figure 13: Contorsion d'une souris (b) après injection intrapéritonéale d'acide acétique (a).....	58
Figure 14: L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte d'une souris.....	59
Figure 15: Mesure de la circonférence de la patte	59
Figure 16: La patte avant (a) et après l'injection de la carragénine (b)	59
Figure 17: Répartition des sites de collecte des scorpions étudiés au Maroc.....	61
Figure 18: Le scorpion <i>Buthus atlantis</i> de la région d'Essaouira	61
Figure 19: Le scorpion <i>Buthus occitanus</i> de la région d'Eljadida.....	61
Figure 20: Extraction du venin du scorpion par la méthode électrique.....	62
Figure 21: (a) Injection sous-cutanée du venin, (b) Technique du gavage des extraits	64
Figure 22: Cassettes de macroscopie	65
Figure 23: Histokinette d'impregnation.....	65
Figure 24: Appareil d'inclusion des tissus par la paraffine.....	66
Figure 25: Microtome.....	66
Figure 26: Dispositif de micro-imagerie numérique.....	66
Figure 27 : Type de traitement traditionnel utilisé auprès des enquêtés de notre étude.....	84
Figure 28: Fréquence d'utilisation des plantes contre les envenimations scorpioniques auprès des enquêtées	86
Figure 29: Courbe de la gamme étalon d'acide gallique.....	90
Figure 30: Teneurs en polyphénols (mg EAG/g MS) totaux des plantes étudiées.	91
Figure 31: Courbe de la gamme étalon de la catéchine	92
Figure 32: Teneur en flavonoïdes totaux des plantes étudiées	93
Figure 33: Courbe de la gamme étalon de la catéchine	94
Figure 34: Teneur en tannins condensés des trois extraits.....	95

Liste des figures

Figure 35: Profil chromatographique à 137 nm de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>T. garganica</i> analysé par HPLC	96
Figure 36: Profil chromatographique à 137 nm de l'extrait méthanolique de racines de <i>T. garganica</i> analysé par HPLC	98
Figure 37: Chromatogramme d'HPLC de l'extrait méthanolique des parties aériennes de <i>L. serriola</i>	101
Figure 38: Activité antioxydante des extraits des plantes étudiées par la méthode de DPPH.....	105
Figure 39: Activité antioxydante des extraits étudiés par la méthode de β -carotène.....	107
Figure 40: Activité antioxydante des extraits étudiés par la méthode du pouvoir réducteur	109
Figure 41: Effet des extraits Met des feuilles de <i>T. garganica</i> , des racines de <i>T. garganica</i> , des parties aériennes de <i>L. serriola</i> et de l'ASA sur les contorsions induites par l'acide acétique chez la souris.....	111
Figure 42: Effet des E.Met des feuilles, racines de <i>T. garganica</i> et parties aériennes de <i>L. serriola</i> sur le temps de latence dans le test de la plaque chauffante chez la souris.	112
Figure 43: Effet des extraits méthanoliques des feuilles, des racines de <i>T. garganica</i> et des parties aériennes de <i>L. serriola</i> sur la douleur induite par le formaldéhyde au cours de la phase précoce (0 à 5 minutes).	114
Figure 44: Effet des extraits méthanoliques des feuilles de <i>T. garganica</i> , des racines de <i>T. garganica</i> et des parties aériennes de <i>L. serriola</i> sur la douleur induite par le formaldéhyde au cours de la phase tardive (15 à 30 minutes).....	115
Figure 45: Variation du volume de la patte de la souris induite par la carragénine.....	117
Figure 46: Variation du pourcentage moyen d'inhibition de l'œdème après administration des extraits (SD ; GF ; GR) à la dose (150 mg ; 300 mg) aux souris Swiss.	117
Figure 47: Courbe de la gamme étalon de la teneur en protéines du venin.....	120
Figure 48: Courbe de détermination de la dose létale 50 du venin de <i>B. occitanus</i>	121
Figure 49: Courbe de détermination de la Dose létale 99 du venin du scorpion <i>B. occitanus</i>	122
Figure 50: Courbe d'étalonnage de la teneur en protéines du venin du scorpion <i>B. atlantis</i>	123
Figure 51: Courbe de la dose létale 50 du venin des scorpions <i>B. atlantis</i>	124
Figure 52: Courbe de détermination de la Dose létale 99 du venin des scorpions <i>B. atlantis</i>	125
Figure 53: Classement des signes de toxicité observés chez les souris envenimées selon l'ordre d'apparition	127
Figure 54: Teneur en protéines des venins des espèces de scorpions étudiées	128
Figure 55: Résultats du test de neutralisation du venin par l'extrait des feuilles de <i>T. garganica</i>	133
Figure 56: Résultats de test de neutralisation du venin de <i>B.occitanus</i> par l'extrait des racines de <i>T. garganica</i>	134
Figure 57: Résultat du test de neutralisation après injection de l'extrait méthanolique de <i>L. serriola</i> contre le venin de <i>B. atlantis</i>	135
Figure 58: Coupes histologiques réalisées au niveau des différents organes (reins, foie, cœur et poumons) après 3h d'injection SC d'une dose de DL ₅₀ du venin du scorpion <i>B.occitanus</i>	138

Liste des figures

- Figure 59:** Coupes histologiques réalisées au niveau des différents organes reins, foie, cœur et poumons des souris après 3h d'injection SC d'une dose de DL₅₀ du venin du scorpion *B.occitanus* 141
- Figure 60:** Variation de l'activité enzymatique et des niveaux de certains métabolites dans les sérums de souris envenimées par rapport aux souris témoins et celles traitées par les feuilles de *T.garganica* 149
- Figure 61:** Variation de l'activité enzymatique et des niveaux de certains métabolites dans les sérums de souris envenimées par rapport aux souris témoins et celles traitées par les racines de *T.garganica* 151
- Figure 62:** Variation des activités enzymatiques et des niveaux de certains métabolites dans les sérums de souris envenimées par rapport aux souris témoins et traitées par les parties aériennes de *L.serriola* 152

Liste des tableaux

Tableau 1: Symptômes cliniques de l'envenimation scorpionique.....	17
Tableau 2: Quelques plantes médicinales utilisées dans le traitement des piqûres scorpioniques	22
Tableau 3: Propriétés symptomatiques recherchées lors de l'utilisation des plantes antivenimeuses scorpioniques et leur principe actif responsable	31
Tableau 4 : Gradient d'éluion des composés phénoliques par HPLC.....	50
Tableau 5: Doses des plantes utilisées dans le test de toxicité aigüe	52
Tableau 6: Protocole de la coloration à l'hématéine et à l'éosine	67
Tableau 7: Procédés de dosage des marqueurs biochimiques	70
Tableau 8: Inventaire des plantes utilisées dans le traitement des envenimations scorpioniques dans les régions étudiées	73
Tableau 9: Rendements des extraits des plantes étudiées.....	87
Tableau 10: Résultats du test phytochimique des extraits méthanoliques du matériel végétal étudié	88
Tableau 11: Composés phénoliques identifiés dans l'extrait des feuilles de <i>T. garganica</i>	97
Tableau 12: Composés phénoliques identifiés dans l'extrait des racines de <i>T. garganica</i>	99
Tableau 13 : Composés phénoliques identifiés dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de <i>L. serriola</i>	102
Tableau 14: IC 50 ($\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques de <i>T. garganica</i> et <i>L. serriola</i> comparée aux antioxydants synthétiques (Quercétine et BHT) pour le test DPPH	104
Tableau 15: IC50 ($\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques de <i>T. garganica</i> et <i>L. serriola</i> comparée aux antioxydants synthétiques (Quercétine et BHT) pour le test d'inhibition du blanchiment de β -carotène	106
Tableau 16: IC 50 ($\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques de <i>T. garganica</i> et <i>L. serriola</i> comparée aux antioxydants synthétiques (Quercétine et BHT) pour le test du pouvoir réducteur	108
Tableau 17: Calcul du probit pour la détermination de la DL_{50}	120
Tableau 18: La détermination de la DL_{50} après injection sous cutanée du venin des scorpions <i>B. atlantis</i> chez les souris	124
Tableau 19: Valeurs DL_{50} du venin d'espèces de scorpions étudiées par mode d'injection sous-cutanée calculées par la méthode de probit	130
Tableau 20: Comparaison de la toxicité des venins des espèces de scorpions étudiées avec celle des autres espèces connues par la toxicité de leurs venins.....	131

Tableau 21: Le degré d'apparition des symptômes observés au niveau des organes des souris envenimées et d'autres envenimées et traitées par l'extrait des feuilles de <i>T.garganica</i> d'après l'étude histologique réalisée.....	139
Tableau 22: Le degré d'apparition des symptômes observés au niveau des organes des souris envenimées et d'autres envenimées et traitées par l'extrait des racines de <i>T.garganica</i> d'après l'étude histologique réalisée.....	142
Tableau 23 : Coupes histologiques réalisées au niveau des différents organes (reins, foie, cœur et poumons) après 3h d'injection d'une dose de DL ₅₀ du venin.....	145

Liste des abréviations

ALAT: Alanine aminotransférase
ANOVA: Analyse de la variance
ASAT : Aspartate aminotransférase
BHT: Hydroxytoluène butylé
BSA : Albumine sérique bovine
CAT: Catéchine
CPK : Créatine phosphokinase
DL₅₀: Dose létale médiane
DL₉₉ : La dose létale 99
DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
E : Externe
CI₅₀ : Concentration d'inhibition médiane
CTR : Contrôle
ECG : Electrocardiogramme
ENV : Envenimé
GA: Acide galique
GABA: Acide γ -aminobutyrique
HPLC: Chromatographie Liquide Haute Performance
I : Interne
LDH : Lactate déshydrogénase
Max : Maximale
Mean : Moyenne
Min : Minimale
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
RT: Temps de rétention
Sc : Sous-cutané
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences
T: Température
TCA: Acide trichloroacétique
UV: Ultraviolet

Sommaire

Chapitre I : Revue bibliographique

1	Généralités sur l'ordre des scorpions	5
1.1	Systématique	5
1.2	Description morphologique des scorpions.....	5
1.3	Répartition géographique des scorpions	7
1.4	Bio-écologie des scorpions.....	8
1.4.1	Habitat.....	8
1.4.2	Comportement	9
1.4.3	Régime alimentaire	9
1.4.4	Prédation et parasitisme	9
1.4.5	Reproduction.....	9
1.4.6	Autres particularités	10
2	Le venin des scorpions.....	10
2.1	L'appareil venimeux	10
2.2	Le venin	11
2.2.1	Composition du venin	11
2.2.2	Les toxines actives sur les canaux sodium	11
2.2.3	Les toxines actives sur les canaux potassium	12
2.2.4	Le mode d'action des toxines du venin.....	12
3	L'envenimation scorpionique	13
3.1	Épidémiologie de l'envenimation scorpionique.....	13
3.1.1	Épidémiologie de l'envenimation scorpionique à l'échelle mondiale	13
3.1.2	Épidémiologie de l'envenimation scorpionique au Maroc.....	14
3.2	Physiopathologie de l'envenimation scorpionique.....	15
3.2.1	Action sur le système nerveux	16
3.2.2	Au niveau cardiovasculaire.....	16
3.2.3	Au niveau gastro-intestinal	16
3.2.4	Action sur le système respiratoire	16
3.3	Traitement de l'envenimation scorpionique.....	17
3.3.1	Traitement spécifique (Immunothérapie antiscorpionique)	17
3.3.2	Traitement symptomatique	18
3.3.3	Les alternatives utilisées pour le traitement de l'envenimation scorpionique.....	18
4	Plantes utilisées comme remède contre les piqûres de scorpions Au Maroc..	20
4.1	Les principes actifs.....	28
4.1.1	Définition	28
4.1.2	Différents groupes des principes actifs	28

4.2	Principes actifs à effets anti-venin de scorpions.....	30
4.3	Modes d'actions des extraits des plantes à activités antivenimeuses scorpioniques.....	32
Chapitre II : Matériel et méthodes		
1	Enquête épidémiologique prospective et ethnobotanique sur le traitement des envenimations scorpioniques dans les régions Marrakech- Safi et Béni Mellal-Khénifra.....	36
1.1	Zone d'étude.....	36
1.2	Population et recueil des données	37
1.3	Validation du questionnaire.....	38
1.4	La taille d'échantillon	38
1.5	Identification des espèces botaniques	38
1.6	Considérations éthiques	38
1.7	Analyse statistique.....	39
2	Étude phytochimique des plantes <i>Thapsia garganica</i> et <i>Lactuca serriola</i>	39
2.1	Présentation des plantes étudiées.....	39
2.2	Critères de sélections des plantes.....	39
2.2.1	<i>Thapsia garganica</i> (John Sibthorp, 1787)	40
2.2.2	<i>Lactuca serriola</i> (Linné, 1756).....	43
3	Obtention des extraits méthanoliques des plantes étudiées.....	45
3.1	Détermination du rendement des extraits des plantes étudiées	46
3.2	Screening phytochimiques	46
3.2.1	Les flavonoïdes	46
3.2.2	Les terpènes et stérols	47
3.2.3	Les tanins (galliques ou cathéchiques).....	47
3.2.4	Les saponines	47
3.2.5	Les anthocyanes.....	47
3.2.6	Les quinones	47
3.2.7	Les alcaloïdes.....	47
3.2.8	Les coumarines	48
3.3	Analyse phytochimique quantitative	48
3.3.1	Dosage des polyphénols totaux.....	48
3.3.2	Dosage des flavonoïdes.....	48
3.3.3	Dosage des tanins condensés	49
4	Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).....	49
4.1	Analyse qualitative	50
4.2	Analyse quantitative.....	51
5	Etude des activités biologiques des extraits de <i>T. garganica</i> et <i>L. serriola</i>	51

6	Évaluation <i>in vivo</i> de la toxicité aiguë des différents extraits des plantes étudiées par voie orale chez les souris	52
6.1	Étude de la toxicité aiguë	52
6.2	Étude de l'activité antioxydante	53
6.2.1	Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	53
6.2.2	Test du pouvoir réducteur	54
6.2.3	Test de blanchissement du β -carotène	54
6.3	L'activité analgésique	55
6.3.1	Test de la plaque chauffante.....	55
6.3.1	Test au formol.....	56
6.3.2	Test de contorsion.....	57
6.4	Étude de l'activité anti-inflammatoire.....	58
6.5	Étude de la toxicité du venin des scorpions étudiés.....	59
6.5.1	Aires de répartition des espèces de scorpions du genre <i>Buthus</i> et comparaison de leur toxicité aiguë.....	62
6.5.2	Scorpions de notre étude.....	61
6.6	Extraction du venin des scorpions.....	61
6.6.1	Dosage des protéines du venin.....	62
6.6.2	Détermination de la dose létale médiane(DL ₅₀) du venin des scorpions étudiés.....	62
6.6.3	Détermination de la dose létale 99.....	63
6.6.4	Observation des signes de toxicité.....	63
7	Etude <i>in vivo</i> de l'activité antivenimeuse des plantes étudiées.....	63
8	Étude histopathologique et biochimique	64
8.1	Analyse histologique.....	64
8.2	Analyse biochimique	67
8.2.1	Prélèvement du sang	67
8.2.2	Dosages des paramètres biochimiques sériques.....	68
9	Analyses statistiques.....	70
 Chapitre III : Résultats et discussion		
1	Énquête ethnobotanique sur le traitement à base de plante des envenimations scorpioniques.....	73
1.1	Inventaire et propriétés des plantes étudiées.....	73
1.2	Répartition des plantes utilisées selon leurs fréquences d'utilisation.....	86
2	Étude phytochimique des plantes étudiées.....	87
2.1	Rendements des extraits des plantes étudiées.....	87
2.2	Screening phytochimique.....	88
2.3	Étude phytochimique quantitative	89
2.3.1	Dosage des polyphénols totaux.....	89
2.3.2	Dosage des flavonoïdes totaux.....	92

2.3.3	Dosage des tannins condensés	94
3	Analyses chromatographiques.....	99
3.1	Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>T. garganica</i>	95
3.2	Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) de l'extrait méthanolique des racines de <i>T. garganica</i>	96
3.3	Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) de l'extrait méthanolique des parties aériennes de <i>L. serriola</i>	99
4	Étude des propriétés toxicologiques des différents extraits de plantes étudiées	102
5	Étude des activités biologiques des extraits de <i>T. garganica</i> et <i>L. serriola</i>..	103
5.1	Évaluation du potentiel antioxydant des extraits des plantes étudiées	103
5.1.1	Étude de l'activité antioxydante des extraits étudiés par la méthode de piégeage du radical 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	104
5.1.2	Test de blanchissement de β -carotène.....	106
5.1.3	Capacité du pouvoir réducteur	108
5.2	Étude de l'activité analgésique	110
5.2.1	Test de contorsion	110
5.2.2	Test de la plaque chauffante.....	112
5.2.3	Test au formol "Formalin test"	113
5.3	Étude de l'activité anti inflammatoire.....	116
6	Étude des propriétés toxicologiques des venins des scorpions	119
6.1	Étude des propriétés du venin du scorpion <i>B. occitanus</i>	119
6.1.1	Dosage des protéines du venin.....	119
6.1.2	Détermination de la DL ₅₀ du venin.....	120
6.1.3	Détermination de la DL ₉₉ du venin	121
6.2	Étude des propriétés du venin du scorpion <i>B. atlantis</i>	122
6.2.1	Dosage des protéines du venin.....	122
6.3	Détermination de la DL ₅₀ du venin <i>B. atlantis</i>	123
6.3.1	Détermination de la dose létale 99 (DL ₉₉) du venin.....	124
6.3.2	Observation des signes de toxicité	126
6.4	Étude des propriétés toxicologiques des espèces de scorpions du genre <i>Buthus</i>	128
6.4.1	Détermination de la teneur en protéines des venins	128
6.4.2	Détermination et comparaison des doses létales médiane (DL ₅₀) des venins	129
6.4.3	Comparaison des doses létales (DL ₅₀) des venins étudiés	131
7	Étude <i>in vivo</i> de l'activité antivenimeuse de <i>T. garganica</i> et <i>L. serriola</i> contre les venins des scorpions <i>B. occitanus</i> et <i>B. atlantis</i>.....	132
7.1	Test de neutralisation du venin de <i>B. occitanus</i> par l'extrait méthanolique des feuilles <i>T. garganica</i>	132

7.2	Tests de neutralisation du venin de <i>B. occitanus</i> par l'extrait méthanolique des racines de <i>T. garganica</i>	133
7.3	Tests de neutralisation du venin de <i>B. atlantis</i> par l'extrait méthanolique des parties aériennes de <i>L. serriola</i>	134
8	Coupes histopathologiques des organes des souris traitées.....	137
8.1	Extrait des feuilles de <i>T.garganica</i>	137
8.2	Extrait des racines de <i>T.garganica</i>	140
8.3	Extrait des parties aériennes de <i>L. serriola</i>	144
9	Analyse biochimique des marqueurs enzymatiques (ALT, AST, CPK, LDH, Urée et Créatinine).....	148
9.1	Extrait des feuilles de <i>T. garganica</i>	148
9.2	Extrait des racines de <i>T. garganica</i>	149
9.3	Extrait des parties aériennes de <i>L. serriola</i>	151
	Conclusion.....	153
	Références bibliographiques.....	156
	Annexes	

Introduction

Les scorpions sont des arthropodes venimeux, largement répandus dans les régions tropicales (Das *et al.*, 2013). Ils constituent un ordre contenant actuellement, environ 2231 espèces et sous espèces regroupées en 20 familles et 208 genres (Santibáñez-López *et al.*, 2016). Parmi ces espèces, environ 25 sont réputées dangereuses pour l'Homme (Stockmann, 2015).

Le Maroc contient l'une des faunes scorpioniques les plus riches et les plus diversifiées à l'échelle de l'Afrique du nord et même du pourtour méditerranéen (Touloun, 2019). Jusqu'à présent 61 espèces et sous espèces réparties en 12 genres et deux familles y sont identifiées (Buthidae et Scorpionidae) (Touloun, 2019). Cette faune scorpionique se particularise par son endémisme marqué (44 espèces endémiques) mais aussi par son intérêt médical. Du fait qu'elle renferme des espèces connues par la grande toxicité de leur venin en particuliers parmi les genres *Androctonus*, *Hottentota* et *Buthus* (Touloun *et al.*, 2001; Soulaymani-Bencheikh *et al.*, 2002 ; Touloun, 2004; Oukkache *et al.*, 2006 ; El Hidan *et al.*, 2015).

Le Maroc fait partie des pays du bassin méditerranéen où le scorpionisme constitue un véritable problème de santé publique. En effet l'envenimation scorpionique y représente la première cause d'intoxication d'après le Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc (CAPM), avec une incidence de 30 à 50 % de l'ensemble des intoxications déclarées au CAPM (Charrab *et al.*, 2009), et un taux de létalité général de 0,27% passant de 2,37% en 1999 à 0,18% en 2017 (El Oufir *et al.*, 2017).

Ce fléau constitue un véritable sujet d'inquiétude, surtout pour la population infantile qui représente plus du tiers des personnes envenimées, avec un taux de mortalité avoisinant 90 % chez les enfants âgés de moins de 10 ans (Touloun *et al.*, 2001; Soulaymani, 2009; El Hidan *et al.*, 2016).

Pour ce qui est de la caractérisation du venin scorpionique, la majorité des études effectuées au Maroc ont concernés le scorpion noir *Androctonus mauritanicus* (El Hafny *et al.*, 2002 ; Oukkache *et al.*, 2008 ; Malih *et al.*, 2009; Chgoury *et al.*, 2011). D'autres travaux de recherche ont intéressés l'étude de la caractérisation toxicologique et physiopathologique des venins des autres espèces marocaines en l'occurrence *Buthus occitanus* ; *Buthus atlantis* ; *Hottentota gentili* et *Androctonus liouvillei*... (Elatrous *et al.*, 2008; El Hidan *et al.*, 2015a; 2016 ; 2018; Bouimeja *et al.*, 2018; 2019). A la lumière de ces données, nous nous sommes intéressés à travers cette étude aux aspects

toxicologiques, histopathologiques et biochimiques des venins des espèces de scorpions jaunes *Buthus occitanus* et *Buthus atlantis*.

Au Maroc, la prise en charge thérapeutique des envenimations scorpioniques repose actuellement uniquement sur le traitement symptomatique, devant l'absence du traitement spécifique (sérum antiscorpionique) depuis le début des années 2000 du fait que son efficacité continue d'être controversée (Soulaymani et al., 2002). D'ailleurs, le scorpionisme reste un sujet dont les complications sont souvent graves voire mortelles, surtout en l'absence du sérum antiscorpionique, d'une prise en charge médicale rapide et adéquate et lorsque la piqûre est venimeuse et n'est pas traitée à temps.

Pour se sauver de cette situation alarmante la plupart des personnes piquées ont eu recours à des moyens traditionnels entre autres la scarification, la pose du garrot, l'ischémie, l'application du gaz de butane à froid, la cryothérapie, la succion, l'application de la pierre noire et la phytothérapie par l'utilisation des plantes médicinales (Soulaymani et al., 2000 ; Touloun et al., 2012 ; El yassir, 2013).

A l'échelle mondiale, en particulier dans les pays en voie de développement d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine, 80% de la population dépend de la médecine traditionnelle dans le traitement des envenimations surtout en milieu rural du fait de la proximité et de l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et surtout en raison des difficultés d'accès aux structures sanitaires, et aussi à cause de l'absence souvent d'un traitement spécifique (SAS) (OMS, 2017).

Au Maroc, pour traiter l'envenimation dans les régions d'endémie scorpionique surtout les plus enclavées, les populations locales se sont souvent basées sur des remèdes naturels (Touloun, 2004). De ce fait, des études se sont intéressées à l'utilisation de certaines plantes médicinales (*Callotropis procera*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula latifolia* ...) pour traiter les complications liées aux envenimations scorpioniques (El Rhaffari et zaid, 2002; Memi et al., 2007; Bouimeja et al., 2018; 2019).

Notre travail qui concerne l'étude de l'activité antivenimeuse des deux plantes *Thapsia garganica* (Apiacées) et *Lactuca serriola* (Astéracées) fréquemment utilisées en milieu rural contre les venins des scorpions, vise à préciser le rôle de la phytothérapie dans la neutralisation du venin scorpionique. Pour cela, nous avons fixé les objectifs suivants :

- la réalisation d'une enquête ethnobotanique dans des régions touchées par les envenimations au Maroc pour la sélection des plantes utilisées par les populations locales afin de traiter ces envenimations,

- l'évaluation des principaux constituants des plantes sélectionnées, via le criblage phytochimique, la quantification et la qualification des polyphénols par l'HPLC,
- l'évaluation des activités analgésiques et anti-inflammatoires des plantes étudiées responsables de leur potentiel neutralisant du venin des scorpions *B. occitanus* et *B. atlantis*,
- la détermination de la toxicité générale aiguë (DL₅₀) des venins des scorpions *B. occitanus* et *B. atlantis*, et des plantes *T. garganica* et *L. serriola*,
- l'étude du pouvoir neutralisant des extraits de *T. garganica* (Apiacées) et *L. serriola* (Astéracées), contre le venin des scorpions *B. occitanus* et *B. atlantis*, par le biais des études histologiques et biochimiques, pour l'évaluation des dommages histologiques au niveau de certains organes (cœur, reins, foie, rate et poumons) des souris envenimées par administration sous-cutanée d'une dose sub létale du venin, et des altérations des marqueurs biochimiques (ASAT, ALAT, CPK, LDH, Urée et Créatinine) au niveau des souris envenimées et traitées par les plantes.

Le présent mémoire est structuré en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique sur l'envenimation scorpionique et la place de la phytothérapie dans le traitement de cette pathologie.
- Le deuxième chapitre comporte le matériel et la méthodologie utilisée.
- Le troisième chapitre a concerné la présentation des résultats obtenus et leur discussion.

Chapitre 1: Revue bibliographique

1 Généralités sur l'ordre des scorpions

Les scorpions sont des arthropodes venimeux et des véritables fossiles vivants parmi les plus anciens arachnides comme étant les premiers arthropodes terrestres datant du silurien (il y a environ 450 millions d'années) (Grassé, 1949).

1.1 Systématique

L'ordre des scorpions appartient à l'embranchement des arthropodes, sous embranchement des chélicérates, classe des arachnides (Monod *et al.*, 2019). Les principaux critères de classification des scorpions se basent essentiellement sur des caractères morphologiques simples en utilisant la clés d'identification (Vachon, 1952 ; Antila *et al.*, 2004; Le Bel, 2020) ainsi que les trichobothries ou soies, la disposition des carènes, la forme de la vésicule à venin, la forme de patte mâchoire, l'extrémité de pattes ambulatoires, le nombre de dents des peignes et la disposition oculaire des yeux (Sadine *et al.*, 2020).

Dans le monde, environ 2584 espèces sont décrites, 190 genres et 16 à 19 familles, parmi ces espèces, environ 25 sont réputées dangereuses pour l'Homme (Rein, 2021).

La famille des Buthidés comprend plus de 1188 espèces de scorpions, dont 219 appartiennent au genre *Tityus* (Ojanguren-affilastro *et al.*, 2017; Rein, 2020). Elle compte à l'échelle mondiale 96 genres répartis en 1232 espèces, cette famille est la plus répandue dans le monde entier (Rein, 2021). Elle comprend les genres connus par la grande toxicité de leur venin : *Centruroides* et *Tityus* dans le continent américain, *Buthacus*, *Androctonus* et *Leiurus* en Afrique du Nord et au Moyen-Orient (Stockmann et Ythier, 2010), elle réunit 40 % des espèces, et la quasi-totalité des espèces dangereuses pour l'Homme (de la Vega et Possani, 2005).

Au Maroc, actuellement Plus de 61 espèces de scorpions, appartenant à 12 genres et deux familles : Famille des Buthidae avec les genres *Buthus*, *Androctonus*, *Hottentota*, *Butheoloides*, *Buthacus*, *Orthochirus*, et *Compsobuthus* ; Famille des Scorpionidae avec le genre *Scorpio*. En effet, environ 72% de ces espèces (44 espèces) sont considérées endémiques de notre pays (Touloun, 2019).

1.2 Description morphologique des scorpions

Les scorpions sont des arthropodes de taille et de poids variables (3 à 20 centimètres), (3 à 60 grammes). Leur morphologie varie peu, caractérisée par un corps étroit, aplati et recouvert de chitine,

formé d'un squelette externe ou cuticule, il est divisé en deux parties : un céphalothorax ou prosome formant un bouclier dorsal et un abdomen ou opisthosome lui-même divisé en préabdomen (ou mésosome) et en postabdomen (ou métasome) terminé par un telson formé d'une vésicule à venin munie d'un aiguillon venimeux (Stockmann et Ythier, 2010) (**Figure 1**).

- **Le prosome ou céphalothorax** : recouvert dorsalement par la carapace qui porte une paire de yeux médians accompagnée 2 à 5 paires de yeux latéraux selon les genres dans la partie antérieure s'insère une paire de pattes mâchoires (ou pédipalpes) et quatre paires de pattes ambulatoires. La bouche située en partie antérieure est encadrée par une paire de chélicères (Abd El-Aziz *et al.*, 2019).
- **Le mesosome ou préabdomen** : constitué par la succession de 7 anneaux d'inégale dimension. Le premier contient les organes sexuels qui débouchent en face ventrale sous l'opercule génital, le second porte les peignes (organes sensoriels) et les trois suivants portent quatre paires de poumons qui s'ouvrent en face ventrale par des stigmates et assurent la respiration de l'animal (Abbassi *et al.*, 2018).
- **Le métasome (post abdomen ou queue)**: formé de six segments dont le dernier qui constitue le telson est terminé par un aiguillon qui sert à l'inoculation du venin (Soleglad et Fet, 2003). La vésicule contient deux glandes à venin qui sont des organes d'excrétion rattachables au tube digestif (Soleglad et Fet, 2003), cette dernière est revêtue d'une couche musculaire. L'aiguillon effilé se termine par deux orifices latéraux servant à l'évacuation du venin lors de la piqûre (Vachon, 1952).

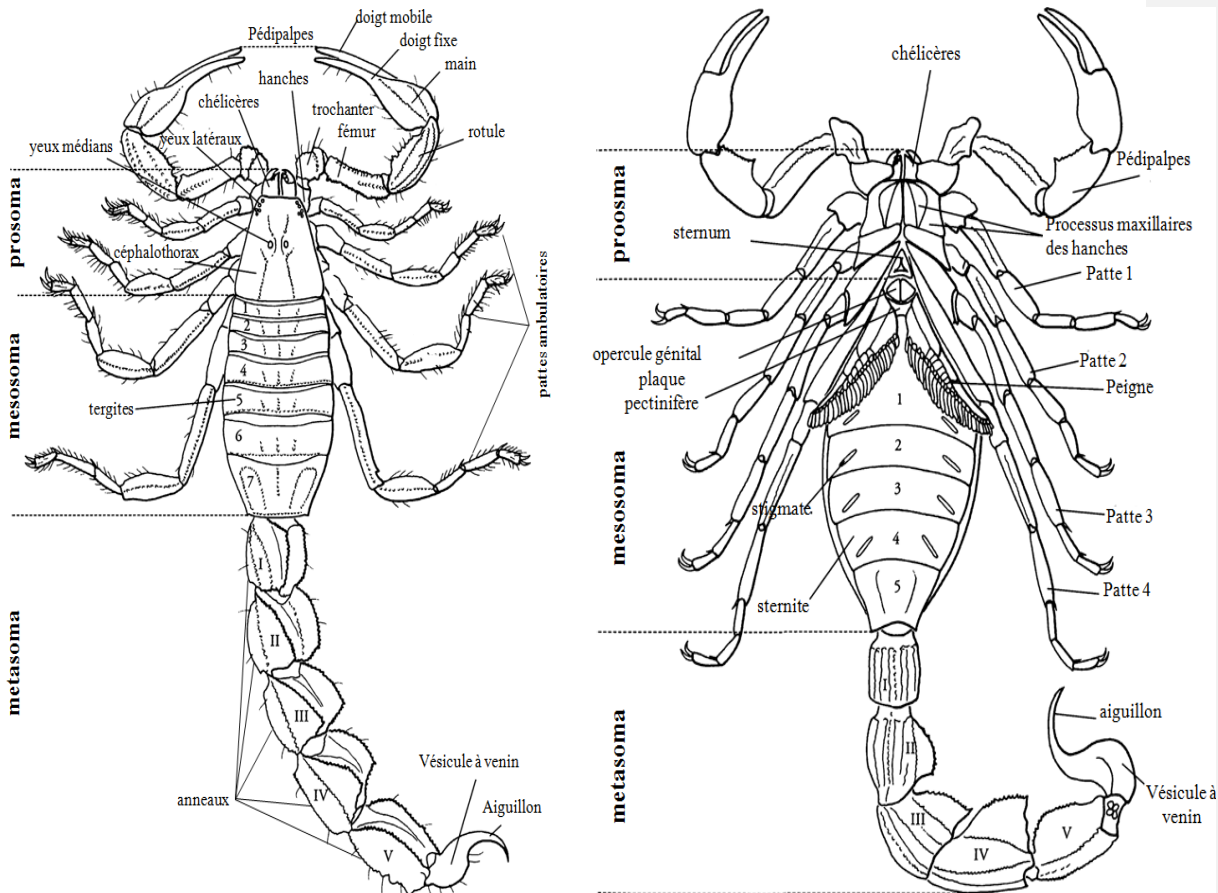


Figure 1: Anatomie du scorpion *Androctonus australis* vue dorsale et vue ventrale (Stockmann et Ythier, 2010)

1.3 Répartition géographique des scorpions

La répartition des scorpions est directement influencée par la géographie, la végétation et le type de substrat. Les scorpions sont des arthropodes thermophiles qui ont franchi le cap de toutes les ères géographiques grâce à leur adaptabilité et leur plasticité écologique en occupant toute sorte de milieu : déserts, forêts, montagnes et zones maritimes (Touloun, 2012). Ils se montrent capables de coloniser les milieux les plus variés des régions tropicales ou tempérées jusqu'à 5000 m d'altitude (Ehma, 2021). Considérés comme des représentants typiques de la faune des déserts chauds (Sahara) (Touloun et Moudén, 2021).

Les scorpions sont de bons indicateurs biogéographiques en raison de leur endémisme qui est dû à leur faible capacité de déplacement (Brownell et Polis, 2001 ; Aboumaâd *et al.*, 2014). A l'échelle mondiale, ils se retrouvent dans les zones tropicales sèches et subtropicales d'Afrique du nord, du Moyen Orient, d'Amérique Centrale et d'Amérique du Sud (Abroug *et al.*, 2020). Ils sont rarement présents en altitude et ne s'étendent pas au-delà des 50° au nord et au sud de l'équateur (Stockmann et Ythier, 2010 ; Mullen *et al.*, 2019) (**Figure 2**).

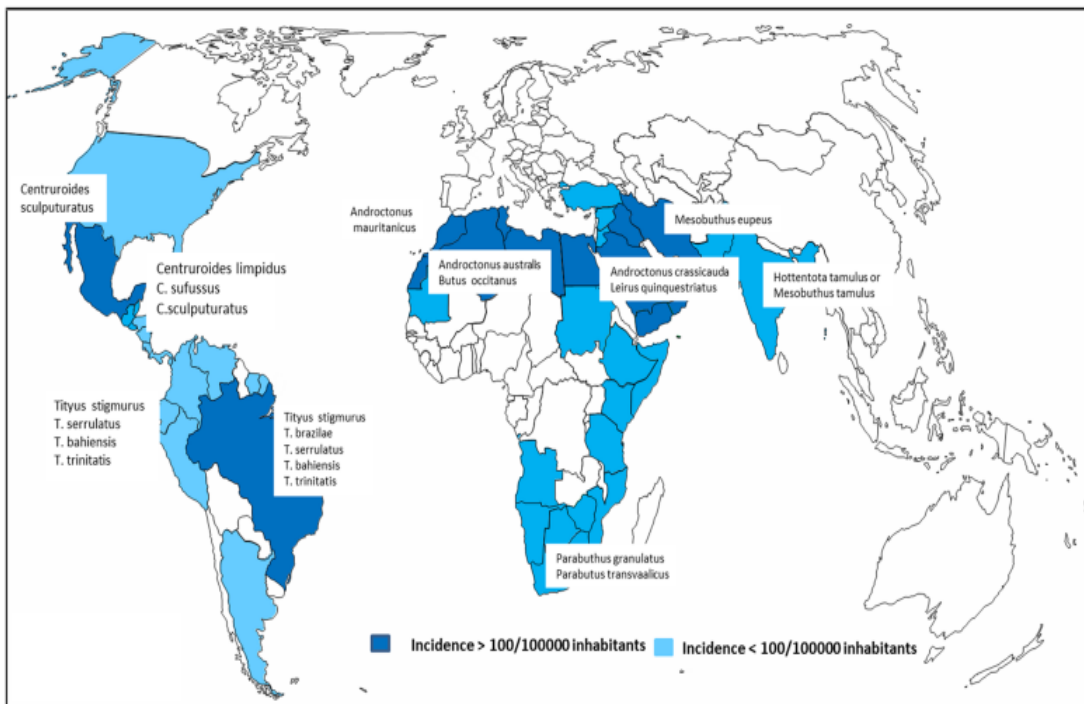


Figure 2: Répartition et incidence des espèces de scorpions à l'échelle mondiale (Abroug *et al.*, 2020).

1.4 Bio-écologie des scorpions

1.4.1 Habitat

Les scorpions sont des animaux thermophiles bien adaptés aux milieux désertiques (Kovarík *et al.*, 2020).

Les scorpions occupent divers types d'habitats (sous les pierres, les rochers, les écorces d'arbres et les vieilles constructions) (Alqahtani et Badry, 2021). Par contre certains scorpions sont de mœurs anthropophiles et occupent les habitats et leurs voisinages (Touloun, 2004). Leur mode de

déplacement est attribué essentiellement à leur dépendance stricte de micro-habitats particuliers (Hmimou, 2009).

1.4.2 Comportement

Les scorpions sont de mœurs nocturnes qui s'éveillent au crépuscule et connaissent leur maximum d'activité entre 20h et 24h, de nature craintive, peu agressive et lucifuge (Goyffon, 2002 ; Ward *et al.*, 2018). Actifs au printemps et en été ils entrent en hibernation dès le début de l'automne. En hiver, les scorpions ne quittent guère leur abri et chassent à l'affût et possèdent une faible vision (Vachon, 1952), Ils sont très résistants à tous les facteurs d'agression de l'environnement tels que l'asphyxie, l'immersion, l'extrême chaleur, le jeûne et même les radiations ionisantes conférant ainsi une véritable indépendance à l'égard du milieu extérieur (Stockmann et Ythier, 2010).

1.4.3 Régime alimentaire

Les scorpions sont des arthropodes prédateurs qui détectent leurs proies par des sens de contact et de son (Gahéry *et al.*, 2021). Ils sont des animaux carnivores, généralement insectivores à digestion externe très lente. Exceptionnellement les scorpions mangent de petits reptiles (lézards, grenouilles...) ainsi que de jeunes mammifères (les rongeurs), et certaines espèces de scorpions sont naturellement enclines au cannibalisme, surtout chez les individus les plus jeunes (Jaulin *et al.*, 2010; Raviv et Gefen, 2021).

1.4.4 Prédation et parasitisme

Dans leur milieu naturel, les prédateurs des scorpions sont principalement les rapaces nocturnes, les lézards, les vipères et les hérissons en milieu rural, les gallinacés telles que ; les poules et les dindons, ils sont généralement parasités par des nématodes (larves de Mermithidae) et par des acariens (Acaridae, Pterygosomidae...) (Jared *et al.*, 2020).

1.4.5 Reproduction

Les scorpions sont des animaux ovovivipares ou vivipares (Lourenço *et al.*, 2018). Les mâles pour retrouver les femelles peuvent parcourir des centaines de mètres. La reproduction peut se produire d'une façon sexuée avec un accouplement précédé par une parade nuptiale qui peut durer jusqu'à une heure, certaines espèces sont parthénogénétiques (Braga-Pereira et Santos, 2021). Chez les scorpions, la période de gestation s'étend de 3 à 18 mois et la maturité sexuelle est atteinte après 6 à 96 mois. La portée peut contenir de 6 à 105 jeunes (Vaucel *et al.*, 2021). Le processus de naissance lui-même peut durer plusieurs heures à plusieurs jours. À la naissance, un jeune scorpion est blanc enveloppé d'un chorion et subit en moyenne cinq mues avant d'atteindre la maturité (Habibulla, 2016).

1.4.6 Autres particularités

Les scorpions peuvent supporter des doses de radiations ionisantes supérieures à 100 fois la dose mortelle pour l'Homme, du fait de la fluorescence de leur tégument en lumière ultraviolette (Gaffin *et al.*, 2012). Les scorpions des milieux arides semblent être les plus résistants à ces radiations (Stockmann, 2015). Ils résistent également à l'asphyxie, aux infections microbiennes et peuvent supporter une déshydratation allant à 40% de leur poids car ils ont des couches supplémentaires de lipides sur leur exosquelette ce qui réduit les pertes d'eau (Chiariello, 2017).

2 Le venin des scorpions

2.1 L'appareil venimeux

L'appareil venimeux du scorpion est logé dans la partie terminale du dernier segment abdominal ou telson renflé (Mullen et Sissom, 2019). Le telson est constitué de deux parties : la partie glandulaire ou les glandes à venin qui sont des organes d'excrétion rattachables au tube digestif, et d'un aiguillon effilé terminé par deux orifices latéraux servant la sortie du venin (Abd El-Atti *et al.*, 2020) (**Figure 3**).

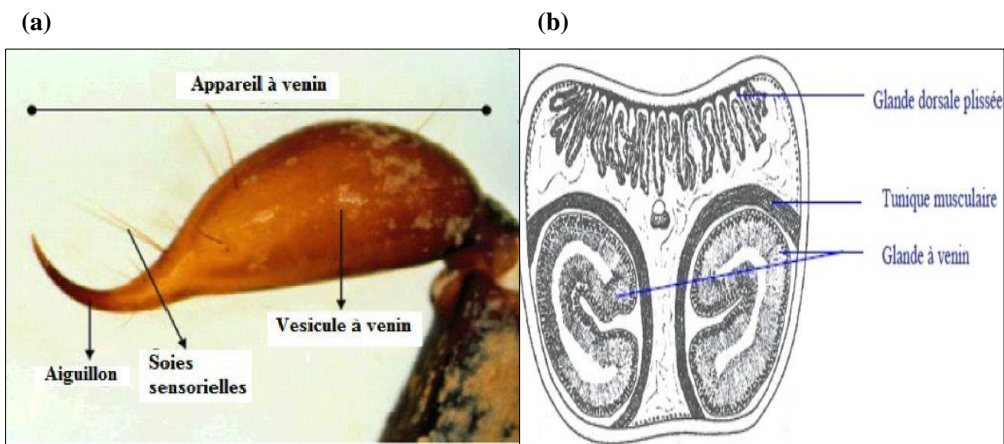


Figure 3: Telson de scorpion (a)

Coupe transversale de la vésicule à venin (Polis, 1990) (b)

2.2 Le venin

2.2.1 La composition du venin

Le venin du scorpion est un mélange complexe de plusieurs substances (Furtado *et al.*, 2020). Il peut être obtenu, soit par stimulation manuelle ou électrique (Oukkache *et al.*, 2013) ou par macération du telson (Ozkan *et al.*, 2006 ; de Roodt *et al.*, 2019). Le venin est un liquide visqueux ombré de pH acide. Composé des mucus, des sels inorganiques, de molécules à haute masse moléculaire, des enzymes (mucopolysaccharides, hyaluronidases, acétylcholinestérase...), des inhibiteurs de protéases, de molécules de faible masse moléculaire (les sérotonines et les histamines) ainsi que des molécules peptiques (8 à 7) kDa représentent uniquement 2 à 3% du venin brut et sont responsables de la quasi-totalité des effets toxiques induits chez les animaux (Fuzita *et al.*, 2015 ; (Minutti-Zanella *et al.*, 2021).

L'essentiel des connaissances acquises sur les venins de scorpions se rapporte aux espèces d'intérêt médical en particulier ceux de la famille des *Buthidae* (Touloun, 2019). La plupart des toxines ont été isolées à partir du venin de ces scorpions et se caractérisent par leurs propriétés pharmacologiques et immunologiques (Kalayci *et al.*, 2016; Munawar *et al.*, 2018; Saez et Herzig, 2019). Ces toxines agissent sur les membranes des cellules excitables (cellules nerveuses et musculaires), par le biais des canaux ioniques (Jiang *et al.*, 2021 ; Diaz-Garcia et Varela, 2021). On reconnaît actuellement quatre familles de toxines qui agissent sur les canaux (sodium, potassium, calcium et chlore).

2.2.2 Les toxines actives sur les canaux sodium

Historiquement, elles constituent les premières à être identifiées, isolées et purifiées. Leur similitude est rapidement constatée et confirmée (Ortiz et Possani, 2018). Elles sont généralement basiques, de masse molaire comprise entre 7000 et 8000 Da, contenant 60 à 70 résidus d'acides aminés et formées d'une chaîne polypeptidique réticulée par quatre ponts disulfures stabilisant leur structure conformationnelle (Santibáñez-López *et al.*, 2022). Cependant, leur grande similitude n'empêche pas une spécificité d'espèces-cibles : on distingue des toxines actives sur les mammifères d'autres sur les insectes et d'autres sur les crustacés, et des toxines, à la fois anti-mammifères et anti-insectes ont été décrites (Srairi-Abid *et al.*, 2019).

Ces toxines se fixent avec une très grande affinité et induisent une prolongation du potentiel en bloquant l'inactivation du canal sodique, qui se manifeste par une hyperexcitabilité du système nerveux suite à une augmentation de la perméabilité du sodium et une libération accrue de neuromédiateurs (Bhavaya *et al.*, 2016).

2.2.3 Les toxines actives sur les canaux potassium

Cette famille de toxines, dont près de quatre-vingts molécules ont été identifiées présentent une grande diversité qui répond à la diversité des canaux potassium et constitue un outil pharmacologique intéressant pour l'étude structurale et fonctionnelle de ces canaux. Ces toxines présentes en faible quantité dans le venin (<1% du poids sec), sont constituées d'une séquence comportant environ trente à quarante résidus d'acides aminés reliés par trois ponts disulfures. De ce fait, elles sont appelées également toxines courtes (Kuzmenkov *et al.*, 2016).

La neurotoxicité des toxines actives sur les canaux potassium se traduit par un puissant effet convulsivant lorsqu'elles sont injectées par voie intra-cérébroventriculaire. La première toxine de cette famille a été identifiée et synthétisée par voie chimique et par ingénierie génétique est la charybdotoxine, extraite du venin du *Leiurus quinquestriatus*. D'autres toxines bloquantes des canaux potassium ont été isolées à partir du venin de diverses espèces de scorpions, tant chez les Buthidae que chez les Scorpionidae (Olamendi-Portugal *et al.*, 2017). Le nombre de peptides de venin de scorpion censés bloquer ou modifier la perméabilité des canaux potassiques dans les cellules excitables et non excitables ont fortement augmenté ces dernières années (Srairi-Abid *et al.*, 2019).

2.2.4 Le mode d'action des toxines du venin

Les toxines du venin de scorpion dont la plupart sont de petites toxines peptidiques ciblent les canaux ioniques présents chez les mammifères et les insectes (Quintero-Hernández *et al.*, 2013). Une fois fixées sur le site, la toxine inhibe l'inactivation du canal ce qui se traduit par une dépolarisation prolongée et par conséquent, une excitation neuronale. Ces neurotoxines présentes dans le venin agissent sur les canaux sodium des cellules excitables, en prolongant l'ouverture de ce canal de sodium (Bahloul *et al.*, 2017), et possèdent aussi une action cardiotoxique directe et indirecte. En effet, sur le myocarde par l'hypersécrétion de catécholamines dans le plasma qui induit la majorité des effets systémiques sévères, y compris la lésion du myocarde, l'œdème pulmonaire et le choc cardiogénique (Pucca *et al.*, 2015 ; Bucarechi *et al.*, 2016; Housley *et al.*, 2017). Les neurotoxines présentes dans le venin constituent un puissant activateur du système nerveux autonome et engendrent une libération massive des neurotransmetteurs issus des terminaisons nerveuses sympathiques et parasympathiques et des glandes surrénales. On assiste donc théoriquement à la fois à une action para-sympathicomimétique suite à la libération d'acétylcholine, et une action sympathicomimétique (libération de catécholamine dont font partie l'adrénaline et la neuroadrénaline) (de Cássia *et al.*, 2019). Cette décharge est responsable d'une défaillance multi-viscérale des organes,

incluant une insuffisance cardiorespiratoire associée à une défaillance neurologique (Abroug *et al.*, 2020).

3 L'envenimation scorpionique

3.1 Épidémiologie de l'envenimation scorpionique

3.1.1 Épidémiologie de l'envenimation scorpionique à l'échelle mondiale

L'envenimation scorpionique constitue un sérieux problème de santé publique et une vraie menace dans plusieurs pays du monde, en particulier, au centre et sud d'Amérique, au nord d'Afrique et au moyen orient (Lourenço, 2018; Ward *et al.*, 2018; Touloun et Moudden, 2021). Plus de 1,2 million de piqûres de scorpion se produisent chaque année dans le monde, en particulier dans les régions tropicales et subtropicales et plus de 4000 décès sont enregistrés chaque année dans le monde (Ebrahimi *et al.*, 2017) (**Figure 4**).

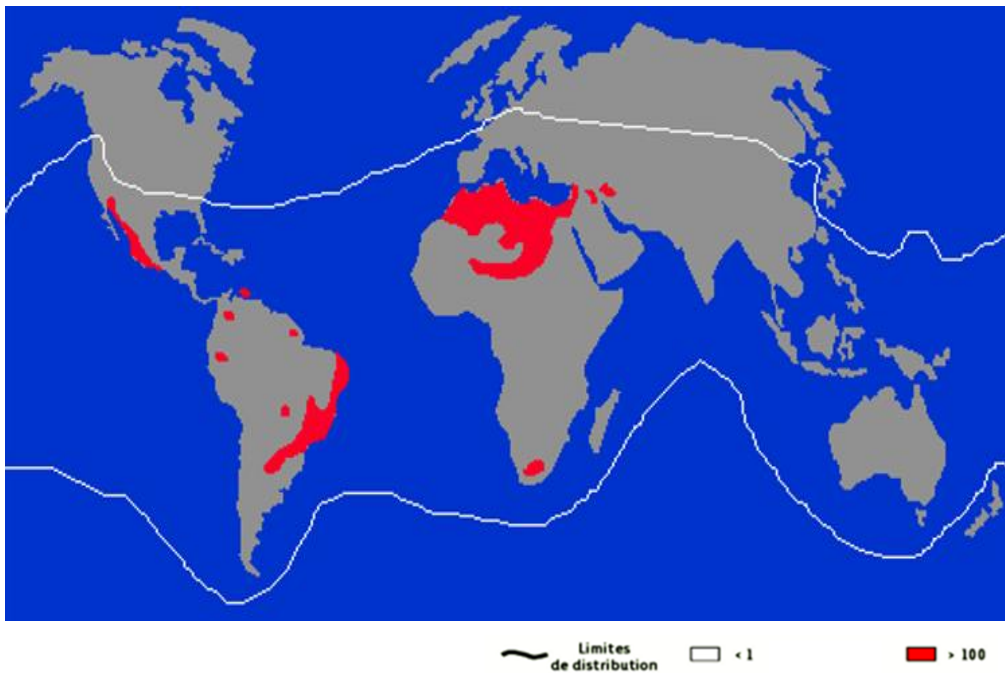


Figure 4: Incidence mondiale (pour 100000 habitants) des piqûres de scorpions (Chippaux, 2009)

3.1.2 Épidémiologie de l'envenimation scorpionique au Maroc

Au Maroc l'intoxication par piqûre de scorpion représente une vraie problématique de santé publique durant les périodes chaudes. En effet, selon le Centre Anti-poison et de Pharmacovigilance du Maroc (CAPM), la piqûre de scorpion occupe la première place parmi les différentes intoxications (30-50%) avec un taux d'incidence allant de 0 à 2,4 % selon les régions (Soulaymani *et al.*, 2005). Celles qui sont les plus touchées par cette problématique étaient Marrakech-Tensift-Al-Haouz (32,2%), Souss-Massa-Draa (17,7%), Chaouia Ouardigha (14,7%), Tadla Azilal (10,2%) et Doukkala Abda (6,1%). L'incidence variait en fonction des régions, elle était de 16 pour 100 000 habitants pour la région de Fès-Meknès et de 296 cas pour 100 000 habitants pour la région de Draa Tafilalt. Le taux de létalité générale dans les six régions à risque était de 2,34‰ (CAPM, 2017). Le nombre maximal des cas de décès a été enregistré à Marrakech- Tensift El Haouz avec une incidence annuelle de 1,2‰ variable de 0 à 2,6‰ selon les régions et chaque année, dont 90% sont rapportées chez les enfants âgés de moins de 15ans (Touloun *et al.*, 2012 ; Ward *et al.*, 2018) (**Figure 5**).

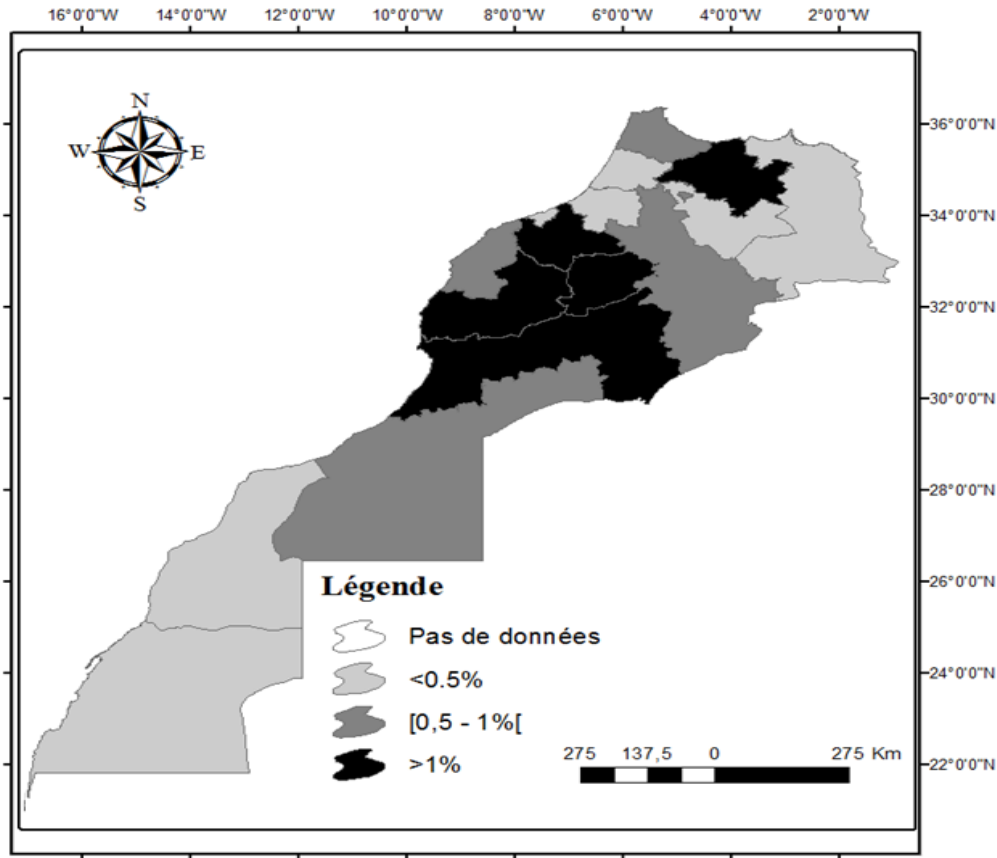


Figure 5: Cartes synthétiques de l'incidence des envenimations scorpioniques au Maroc (D'après Tamim, 2010)

3.2 Physiopathologie de l'envenimation scorpionique

La physiopathologie de l'envenimation scorpionique est essentiellement liée à la présence de neurotoxines dans le venin, qui affectent les membranes des cellules neuronales et musculaires, touchant à la fois le système nerveux, cardiovasculaire, immunitaire et respiratoire, déstabilisant ainsi l'axe neuro-immuno-endocrinien (Abroug *et al.*, 2020). Les actions hémolytiques et enzymatiques quand elles existent sont très secondaires. La plupart des manifestations cliniques observées au niveau des organes sont causées par l'excitation neuronale et la libération de neurotransmetteurs (Bahloul *et al.*, 2010 ; Darkaoui *et al.*, 2022). Cependant, l'effet neurotoxique de ces venins se traduit par plusieurs actions :

3.2.1 Action sur le système nerveux

Expérimentalement l'injection intra-cérébro-ventriculaire de venin purifié chez le chat, le lapin et le rat entraîne des manifestations très variées d'excitation du système nerveux : état d'agitation, tremblement, mouvement anormaux, convulsion, rigidité des muscles, hyperthermie et troubles respiratoires (Sofer, 2013 ; Nencioni *et al.*, 2018). La stimulation du système nerveux sympathique est source de tachycardie, d'hypertension artérielle, de mydriase, de sueurs profuses et de rétention urinaire. La stimulation du système parasympathique entraîne une hypersécrétion bronchique, une hypersalivation, une bradycardie, une hypotension artérielle, un priapisme et un myosis, un des effets sympathiques ou parasympathiques peut prédominer mais le plus souvent les deux effets varient de façon dynamique (Abraha *et al.*, 2018).

3.2.2 Au niveau cardiovasculaire

Le venin du scorpion stimule les deux branches du système nerveux autonome, et libère les catécholamines et la rénine qui ont un effet toxique direct sur les myocytes cardiaques (Álvarez *et al.*, 2021). Ce dysfonctionnement cardiaque se traduit par une décharge importante des catécholamines. C'est à ce stade qu'apparaissent des altérations polymorphes non spécifiques de l'électrocardiogramme (ECG), associant des troubles du rythme (tachycardie ou bradycardie) (Kalantri *et al.*, 2020).

3.2.3 Au niveau gastro-intestinal

Au niveau gastro-intestinal, les manifestations cliniques observées lors d'une envenimation scorpionique sont essentiellement les vomissements, les diarrhées, l'hypersalivation, la distension gastrique et la dysphagie. Cependant, rarement une hématomèse et un méléna peuvent être observés (Nour Eldin *et al.*, 2022).

3.2.4 Action sur le système respiratoire

L'envenimation scorpionique peut entraîner des troubles respiratoires à savoir une tachypnée, une dyspnée laryngée, une irrégularité du rythme ventilatoire et une insuffisance respiratoire aigüe. Ces troubles sont dus à l'action du venin à différents niveaux : système nerveux central, corpuscule carotidien, voie réflexe empruntant les voies afférentes vagues (Godoy *et al.*, 2021). Parfois provoque un œdème aigu pulmonaire, une polypnée et un blocage respiratoire (Shetty *et al.*, 2019). Les symptômes d'une envenimation peuvent être classés en trois grades (**Tableau 1**).

Tableau 1: Symptômes cliniques de l'envenimation scorpionique (Benaïssa et Assala, 2020)

Grades	Symptômes
Grade I	Manifestation locale (éruption bulleuse, érythème, démangeaisons, fourmillement, douleur, nécrose...).
Grade II	Manifestations mineurs (hyperthermie-hypothermie), Manifestations digestives (vomissements, distension abdominale, diarrhée, hémorragie gastro-intestinale, pancréatite), Hypertension, priapisme, rétention d'urine, sudation, frisson, tachycardie, agitation, mydriase...
Grade III	Manifestations graves mettant en jeu le pronostic vital (détresse cardiovasculaire, respiratoire et neurologique).

L'évolution paraît spontanément et rapidement favorable dans les envenimations du stade 1. Elle est favorable dans plus de 50% des cas au stade 2, avec une prise en charge hospitalière. L'évolution au stade 2 vers le stade 3 se fait dans 5 à 10% des cas, ce stade étant fatal dans 30 à 40% des cas (Pierre, 2015).

3.3 Traitement de l'envenimation scorpionique

Il n'y a pas de consensus sur le traitement de l'envenimation par piqûre de scorpion. Actuellement la conduite thérapeutique comporte deux volets, un traitement spécifique visant à neutraliser le venin, par administration d'un sérum antivenimeux et un traitement symptomatique ayant pour but de corriger les troubles engendrés par l'action du venin sur l'organisme.

3.3.1 Traitement spécifique (Immunothérapie antiscorpionique)

Découverte en 1894, la sérothérapie est le seul traitement étiologique des envenimations scorpioniques basée sur l'utilisation des anticorps de hautes affinités, ayant la capacité de se combiner aux molécules du venin, afin de les neutraliser et augmenter l'élimination (Azza, 2015). L'anti-venin devrait être administré le plus tôt possible et par voie intraveineuse pour une meilleure diffusion et pour faciliter la complexation avec le venin (Nait Mohamed et Laraba-Djebari, 2021). Cependant, ils sont particulièrement controversés aussi bien en Afrique qu'en Inde en ce qui concerne leur utilité et leur efficacité dans le traitement de l'envenimation scorpionique (Sifi *et al.*, 2018).

En effet, il existe une crainte des effets secondaires, ainsi qu'une inquiétude de l'administration incorrecte d'anti-venin, soit par une autre voie que la voie intraveineuse ou à des

doses insuffisantes. Au Maroc la stratégie de lutte contre les piqûres et les envenimations scorpioniques a exclu le sérum antiscorpionique (IgG en intramusculaire) du protocole de prise en charge depuis 2001. Cette décision a été fondée sur les travaux de recherche qui ont prouvé son inefficacité (Soulaymani *et al.*, 2002).

3.3.2 Traitement symptomatique

Le traitement symptomatique vise à corriger les effets de l'envenimation et sera adapté au type de manifestations cliniques. Pour les piqûres de scorpion sans manifestations systémiques qui présentent une douleur locale importante, un traitement symptomatique est généralement suffisant, à base d'antalgiques, ou par infiltration locale d'anesthésiques (Xylocaïne). La douleur peut être soulagée efficacement en refroidissant la zone d'inoculation (Djilani *et al.*, 2020), par la suite la partie atteinte sera immobilisée. Pour le traitement de l'œdème aigu du poumon l'oxygénothérapie (OAP), la ventilation en pression positive continue, les dérivés nitrés, la restriction hydrique et diurétique, ce traitement s'attachera à réduire la douleur et le syndrome inflammatoire (Chippaux, 2016). En cas du choc cardiogénique (Dobutamine) le patient doit être gardé en observation pendant une durée minimale de 24 heures, même s'il ne présente aucune manifestation clinique d'envenimation (Dufour-Gaume et Milleliri, 2020).

3.3.3 Les alternatives utilisées pour le traitement de l'envenimation scorpionique

Malgré les progrès scientifiques et médicaux réalisés au Maroc, les populations locales des régions d'endémie scorpionique ont souvent recourt à des soins thérapeutiques traditionnels dus à leurs croyances, à la grande efficacité de ces soins et à cause des difficultés d'accès aux structures sanitaires. Le traitement de ces envenimations au Maroc constitue toujours une problématique à cause de l'absence des antivenins, ce qui pousse encore les habitants du milieu rural à persister dans cette approche traditionnelle (Nait Mohamed et Laraba-Djebari, 2021). En effet, face à ces piqûres les pratiques courantes de guérison sont multiples :

- Lavage par l'eau de Javel : C'est une méthode empirique tentée au Maroc mais reste inutile car l'eau de javel est toxique pour l'homme et surtout s'il n'est pas dilué (El yassir, 2013).
- La pose du garrot : Est le geste de premier secours le plus utilisé dans les pays tropicaux, l'ensemble des auteurs s'accordent sur le fait que le garrot retarde l'apparition des symptômes et que ces derniers sont brutalement aggravés par la levée du garrot. Il est inefficace et

dangereux. Un membre, bras ou jambe garrottés peuvent être ischémiés et donc amputés à cause d'un garrot (Soulaymani *et al.*, 2000).

- Les scarifications du site de piqûre : C'est aussi inutile, car la scarification peut au contraire faire entrer le venin égaré en sous-cutané dans la circulation générale et aggraver la situation de l'envenimé. Les scarifications, si faites dans des conditions douteuses, peuvent occasionner d'autres infections voire le tétanos qui est une maladie redoutable (Touloun, 2004).
- Le lait caillé, la chair séchée de fouette-queue, le sel gemme rouge, gaz de butane.... (Touloun, 2004).
- Certains ont recours à l'élevage d'animaux domestiques (chats, poulets et hérissons...), pour introduire une chaîne alimentaire permettant de limiter la prolifération des scorpions.
- Aspiration du venin : L'élimination physique du venin par le point de pénétration est évidente. Pour autant, l'efficacité n'a toujours été démontrée, malgré de nombreuses tentatives, il y'a plusieurs systèmes d'aspiration instrumentale du venin : Aspivenin®, Extractor®, Venom-Ex® peuvent être rangés dans une catégorie très voisine de la thérapeutique traditionnelle. Les systèmes d'aspiration instrumentale ont fait l'objet d'études expérimentales qui ont montré leur faible efficacité (Bush *et al.*, 2000). Le venin diffusé très rapidement dans l'organisme et l'action locale de l'aspiration est trop limitée pour avoir un rendement suffisant. Cette méthode risque donc de faire perdre un temps précieux et d'entraîner une aggravation des lésions nécrotiques au niveau de la zone d'application de la ventouse (Alberts *et al.*, 2004).
- Dénaturation chimique du venin : L'application locale de substances chimiques, acides, bases, détergents, liquides biologiques divers (bile ou urine) est également très souvent pratiquée, c'est une application qui a prouvé son inefficacité car la structure des toxines des venins scorpioniques reste ordonnée, même dans l'eau portée à ébullition ou après traitement par des agents dénaturants (Lourenço, 1991).
- Dénaturation physique : La chaleur, sous forme de flamme nue ou de cautère, provoque des brûlures sévères. Les lésions causées par ces brûlures sont considérables et hors de proportion avec l'improbable efficacité de cette méthode c'est une pratique empirique déconseillée car elle est très dangereuse (Chani *et al.*, 2010).
- L'application directe ou trop prolongée de la glace sur la peau est également déconseillée (El yassir, 2013).

- Le choc électrique : Que cette pratique curieuse soit réelle ne prouve évidemment pas qu'elle soit efficace. Elle est douloureuse et dangereuse. Les justifications pseudo-scientifiques telles que, ionisations des protéines du venin, stimulation des défenses de l'organisme ou électrospasme vasculaire ralentissant la diffusion du venin sont négligeables face à l'inefficacité totale et potentiellement dangereuse. Elle a été interdite aux Etats-Unis d'Amérique par la "Federal Drug Administration" (W.H.O, 2001).

Dans la plupart des cas, la diffusion très rapide du venin limite l'intérêt de ces méthodes, dont les effets secondaires sont souvent très sévères

Parmi ses soins traditionnels figure la phytothérapie par l'utilisation de certaines plantes médicinales. L'efficacité de plusieurs plantes sur l'envenimation scorpionique a été prouvée, par les différents principes actifs qu'elles renferment (Alam et Gomes, 2003 ; Jiménez-Ferrer *et al.*, 2005; Memmi *et al.*, 2007; Nasim *et al.*, 2013 ; Bouimeja *et al.*, 2018 ; 2019).

Puisque l'utilisation du traitement spécifique et symptomatique est limitée (Soulaymani-Bencheikh *et al.*, 2002 ; Chippaux, 2009). Aussi toutes les pratiques traditionnelles précitées ci-dessus sont inutiles voir dangereuses. Alors, les plantes médicinales restent la seule alternative efficace au traitement des piqûres, elles sont plus courantes, facilement disponibles et moins chères (Bahekar *et al.*, 2012).

4 Plantes utilisées comme remède contre les piqûres de scorpions au Maroc

Il existe environ 500 000 espèces de plantes sur la terre, dont 80 000 ont des propriétés médicinales (Souilah et Medjroubi, 2018). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), dans certains pays du monde et en particulier dans les pays en voie de développement d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine, 80% de la population dépend de la médecine traditionnelle surtout en milieu rural du fait de la proximité et de l'accessibilité de ce type de soins au coût abordable et surtout en raison du manque d'accès à la médecine moderne de ces populations (OMS, 2004).

En effet, plusieurs études réalisées sur les traitements traditionnels contre l'envenimation scorpionique à base de plantes ont mis l'accent sur le problème de toxicité ou d'interaction pouvant causer des échecs thérapeutiques ou des accidents, mais durant ces dernières années un grand intérêt a été dirigé vers la phytothérapie traditionnelle qui a permis d'approfondir l'analyse de son efficacité thérapeutique et surtout de son aspect toxicologique qui reste en rapport avec l'avancement de la phytothérapie (Maiza *et al.*, 1993).

Le Maroc constitue un véritable réservoir phytogénétique avec environ 4500 espèces et sous-espèces de plantes vasculaire (Boubekri *et al.*, 2020). La diversité du relief et les bioclimats les plus variés a donné lieu à un grand nombre d'espèces endémiques (Bergier et Thevenot, 2012 ; Hachi *et al.*, 2015).

Ces caractéristiques lui permettent d'occuper une place privilégiée parmi les pays méditerranéens ayant une tradition médicale ancienne et le savoir-faire traditionnel basé sur les plantes médicinales (Scherrer *et al.*, 2005). Cependant, la flore médicinale marocaine reste mal connue ; parce que sur quelques milliers d'espèces végétales, le nombre recensées ne dépasse pas 600 espèces et plus de 360 espèces sont utilisées pour le traitement d'une grande variété de maladies (Fakchich et Elachouri, 2014 ; El Haouari *et al.*, 2018) représentent respectivement 8, 69% et 14,28% de la flore marocaine totale (Alaoui *et al.*, 2018).

La médecine traditionnelle marocaine a ses racines qui appartiennent à la médecine arabe classique, à laquelle ont été ajoutées des innovations apportées par les populations locales. Le savoir thérapeutique traditionnel marocain est arabo-berbère dans sa constitution, avec également une contribution africaine et andalouse (Chraïbi *et al.*, 2018). De plus, le climat tempéré du pays a permis l'adaptation de nombreuses plantes non indigènes (Rhafouri *et al.*, 2014).

Le **Tableau 2** présente les espèces de plantes utilisées pour le traitement des envenimations scorpioniques. Les principaux organes utilisés (86,66 %) sont la partie aérienne (tige, feuille, fleur, graine isolée, fruit), les extraits de la partie aérienne (galle, gomme, latex, résine, suc, goudron...) et les autres organes sont aussi utilisés. Ce choix peut être expliqué par la facilité et la rapidité de la récolte mais aussi, selon les intentions des usagers, par le fait que ces organes soient exposés au soleil ce qui leur procure des vertus et des bienfaits. Cela pourrait être dû au phénomène de photosynthèse qui favorise la biosynthèse et le stockage des métabolites secondaires (El Rhaffari, 2002). Alors que les modes de préparation varient en fonction de la partie de la plante utilisée. Par voie orale, nous trouvons des décoctions, des infusions et des breuvages souvent additionnés d'eau, de lait ou d'huile. Par voie externe, ce sont des applications du broyât, du produit grossier de l'écrasement sous forme de cataplasme (Dupré, 2010).

Tableau 2: Quelques plantes médicinales utilisées dans le traitement des piqûres scorpioniques

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Famille	Partie utilisée de la plante	Mode de préparation	Mode D'application	Référence (s)
<i>Acacia gummifera</i> Willd.	Gommier du Maroc, Talh	Fabaceae	Feuilles	Cataplasme	E	El Rhaffari et Zaid, 2002
<i>Allium cepa</i> L.	Oignon trituré	Amaryllidaceae	Bulbe	Cataplasme	E	Bellakhdar, 1997
<i>Allium sativum</i> L.	Ail	Alliaceae	Bulbe	Cataplasme	E	Boukef , 1986; EmamAl-Otobi, 2022
<i>Aristolochiapaucinervis</i> Pomel.	Berztm	Aristolochiaceae	Bulbe	Cataplasme	I	Jiménez-Ferrer <i>et al.</i> , 2005
<i>Aristolochia Longa</i> L.	Bereztem	Aristolochiaceae	Racine	Décoction	I	Kahouadji, 1995
<i>Artemisia campestris</i> L.	Chih	Astéracées	Feuilles	Décoction	I	Memmi <i>et al.</i> , 2007

<i>Asparagus officinalis</i> L.	Asperge, Sekkoum	Asparagaceae	Tige	Cataplasme	E	Salhi <i>et al.</i> , 2010
<i>Astragalus armatus</i> L.	Azemroug	Fabaceae	Partie aérienne	Cataplasme	E	El Rhaffari, Zaid, 2002
<i>Astragalus gombiformis</i> Pomel.	Ouchked/Touch ked	Fabaceae	Partie aérienne	Décoction	I	El Rhaffari, Zaid, 2002
<i>Baltandieraamaena</i> Batt.	Bsal Eddib	Oleaceae	Bulbe	Cataplasme	E	El Rhaffari, Zaid, 2002
<i>Bupleurumsemicompositum</i> L.	Adolfsa	Apiaceae	Fleur	Cataplasme	E	El Rhaffari, Zaid, 2002
<i>Calotropice precera</i> Aiton.	pomme de Sodome	Asclepiadaceae	Feuilles, Fruit	Jus	I	G.R.I.P.T, 2001
<i>Citrullus colocynthis</i> L.	La coloquinte, Handal, L'ehdeja	Cucurbitacées	Racine	Cataplasme, jus	E ; I	Bellakhdar, 1997
<i>Citrus limon</i> L.	Citron	Rutaceae	Fruit, graine	Jus	I	Otero <i>et al.</i> , 2000
<i>Conium maculatum</i> L.	Sikran, Barbus Ziyyata	Apiaceae	Racine	Décoction	I	Charnot, 1945 Kahouaji, 1995

<i>Cresso cretica</i> L.	Henna	Lythraceae	Plante entière	Cataplasme	E	El Rhaffari, Zaid, 2002
<i>Echinacea purpurea</i> L.	Hérisson	Astéracées	Racine	Décoction	I	Valnet, 2001 ; Bruneton J, 2009
<i>Eryngium creticum</i> Lam.	un panicaut	Apiaceae	Feuilles, Racine	Décoction	I	Jaghabir, 1991; Oukkacheet <i>al.</i> , 2014
<i>Eryngium triquetrum</i> Vahl.	Zreyga, chôukazrak	Apiaceae	Racine	Cataplasme	E	Lev, 2002 ; Yesilada <i>et al.</i> , 2003
<i>Euphonia cornuta</i> Pers.	Moulbina	Euphonia	Latex	Juice	I	El Rhaffari, Zaid, 2002
<i>Euphorbia guyoniana</i> Boiss.	Euphorbe de Guyon	Euphorbiaceae	Latex	Décoction	I	Bouhadjera <i>et al.</i> , 2005
<i>Euphorbia resinifera</i> Berg.	Zaggoume	Euphorbiaceae	Latex	Cataplasme	E	Bellakhdar, 1997
<i>Hammada scoporia</i> L.	Rremt/Tassayt Assay	Amaranthaceae	Feuilles	Cataplasme	E	El Rhaffari, Zaid, 2002

<i>Haplophyllum Tuberculatum</i> Forssk.	Fidjel	Rutacées	Partie aérienne	Jus	I	Maizaet <i>al.</i> , 1993, OuldEl-Hadjet <i>al.</i> , 2003, Chehma et Djebar, 2008 ;Hadjaidji- Benseghier et Derridj, 2013
<i>Helianthe mumkahiricum</i> Del.	AssgherSsem	Cistaceae	Feuille	Cataplasme	E	El Rhaffari, Zaid, 2002
<i>Humiriantheraampla</i> L.	Surucucaína	Icacinaceae	Feuille, graine et racine	Cataplasme	E	Luiz <i>et al.</i> , 2007
<i>Lactuca serriola</i> L.	Assafernsem	Compositaie	Partie aérienne	jus	I	Hutt et Houghton, 1998 ; Al-Asmari <i>et al.</i> , 2017 ; Bouimeja <i>et al.</i> , 2019
<i>Lavande Aspic</i> L.	khouzama	Lamiacées	Huile essentielle	Décoction	I	Baudoux, 2009;Zahalka, 2010
<i>Limoniastrum</i> <i>Guyonianum</i> Boiss.	Zeta	Plumbaginaceae	Fleur	Décoction	I	Hadjadj, 2015

<i>Malpighiae marginata</i> L.	Acérola - Az-zouroûr	Malpighiacées	Fruit	Jus	I	Bontemps, 2009 ; Valnet, 2001
<i>Matricaria pubescens</i> Desf.	Schultz Garteufa	Asteraceae	Feuilles, Fleur	Jus	I	Maizaet <i>al.</i> , 1993, Ould El Hadj <i>et al.</i> , 2003 et Hadjaïdji- Benseghier et Derridj, 2013
<i>Nitrariaretusa</i> Forssk.	Ghardaq	Zygophyllaceae	Fruit	Cataplasme	E	Chahma, 2006
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Basilic Hbak	Lamiacées	Feuille	Décoction	I	Lacoste, 2014
<i>Peganum harmala</i> L.	Harmel	Zygophyllaceae	Graine	Décoction	I	Bouallala, 2014
<i>Pergulariatomentosa</i> L.	Sollakha	Apocynaceae	Feuilles	Cataplasme	E	El Rhaffari, Zaid, 2002
<i>Pimpinella anisum</i> L.	Anisvert, Habbat halâwa	Apiaceae	Feuille, fruit	Décoction	I	Tahri <i>et al.</i> , 2012 ; Bellakhdar, 1997

Revue bibliographique

<i>Tamarix gallica L.</i>	Fersig, afersi Tarfa, L'aâriche	Tamaricaceae	Feuilles	Cataplasme	E	Bellakhdar, 1997; Hammiche et Maiza, 2006
<i>Thapsia garganica L.</i>	Derrias	Apiaceae	Racine, résine	Décoction	I	Bellakhdar, 1997 Bouimeja <i>et</i> <i>al.</i> , 2018
<i>Zygophyllum album L.</i>	Bougriba	Zygophyllaceae	Feuille	Décoction	I	Bouallala, 2014

I : Interne

E : Externe

4.1 Les principes actifs

4.1.1 Définition

Le principe actif est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'Homme ou l'animal (Akinyemi *et al.*, 2018). Les principes actifs d'une plante médicinale sont des composants naturels présents dans celle-ci. Ils confèrent à la plante son activité thérapeutique. Bien que, souvent en quantité extrêmement faible dans la plante, il est issu des plantes fraîches ou séchées. On retrouve les principes actifs dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Dans une même plante, tous les principes actifs n'ont pas les mêmes propriétés. L'oranger en est l'exemple type, pendant que ses fleurs sont sédatives ; son écorce est par contre apéritive. Parmi les parties utilisées : les feuilles, les fleurs, les racines, les écorces, les sommités fleuries ou encore les graines (Saouli, 2019).

4.1.2 Différents groupes des principes actifs

- Les Polyphénols :

Le règne végétal constitue une source importante de polyphénols. Ces derniers sont présents dans toutes les parties de la plante mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents organes et tissus. Ces molécules sont pourvues de différents rôles dans la plante, notant les agressions climatiques ; stress biotique ou abiotiques contribuent aussi à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) (Samec *et al.*, 2021). Ces composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils se subdivisent en sous classe principales ; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins (Madi, 2018).

- Les tanins:

Tanin est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux. On distingue deux catégories : les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines. Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (Girard et Bee, 2020).

- **Les anthocyanes:**

Sont issus de l'hydrolyse des anthocyanides (flavonoïdes proches des flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge ou pourpre. Ces puissants antioxydants neutralisent les radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans l'organisme. Il existe plusieurs plantes très riches en anthocyanes tels que la mure sauvage (*Rubus fruticosus*) et la vigne rouge (*Vitis vinifera*) (Krga, 2018).

- **Les saponines:**

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales (*Saponaire officinale*). Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes, certaines saponines peuvent présenter un certain nombre d'activités pharmacologiques, telles que les activités antitumorales, antioxydantes, anti-inflammatoires, antidiabétiques et neuroprotectrices, elles ont aussi un effet sur l'activité hormonale (Hussain *et al.*, 2019 ; Nguyen *et al.*, 2020).

- **Les flavonoïdes:**

Les flavonoïdes sont généralement des antibactériennes (Blaise *et al.*, 2021). Ils peuvent être exploités dans plusieurs domaines comme les industries cosmétiques, alimentaires et pharmaceutiques. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (Rahmouni, 2019).

- **Les alcaloïdes :**

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve généralement dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Togola *et al.*, 2019).

- **Les coumarines:**

Les coumarines, constituent une classe importante de produits naturels, de différents types, se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Berkal et Bouchama, 2016). Ils possèdent des propriétés très diverses. Certaines coumarines contribuent à fluidifier le sang (*Melilotus officinalis*) alors que d'autre, soignent les affections cutanées (*Apium graveolens*) (Bahaoui et Kadri, 2019).

4.2 Principes actifs à effets anti-venin de scorpion

L'efficacité de plusieurs plantes sur l'envenimation scorpionique a été démontrée. Leur intérêt est lié aux différents principes actifs qu'elles renferment et qui agissent en profondeur sans agresser l'organisme, en stimulant ses défenses immunitaires (Khacheba et Benamarm, 2008).

Les plantes médicinales ayant un potentiel anti-scorpion contiennent différents types de flavonoïdes, stéroïdes, triterpénoïdes, alcaloïdes, tanins et coumarines. Généralement, les composants chimiques sont multifonctionnels car ils remplissent simultanément plusieurs fonctions biochimiques ou pharmacologiques (**Tableau 3**). Cependant, ces plantes médicinales font toujours l'objet des tests pharmacologiques et phytochimiques afin d'être considérées comme efficaces contre l'envenimation du scorpion (Butt *et al.*, 2021; Telli *et al.*, 2022).

Tableau 3: Propriétés symptomatiques recherchées lors de l'utilisation des plantes antivenimeuses scorpioniques et leur principe actif responsable

Symptômes	Activité recherchée	Principe actif responsable	Référence
Douleur	Antalgique, Anti-inflammatoire	Saponines, flavonoïdes, terpènes et stérols	Tahiri <i>et al.</i> , 2022
Œdème	Anti-inflammatoire	Alcaloïdes, coumarines, saponines, flavonoïdes et tanins	Coulibaly <i>et al.</i> , 2020
Nécrose	Anti-inflammatoire, Anti-oxydante	Quercétine, acide P-coumarique, acide chlorogénique, rutine, flavonoïdes	Dupre, 2013 ; Elansary <i>et al.</i> , 2020
Angoisse	Sédatif	β -sitostérol	Panayotis <i>et al.</i> , 2021
Infection	Antiseptique	Quercétine, acide gallique, coumarines	Tunit <i>et al.</i> , 2022
Hémorragies	Hémostatique	Flavonoïdes, tanins catéchiques et saponines	Harouak <i>et al.</i> , 2022
Troubles respiratoires	Analeptique respiratoire	Myricetine, flavonoïdes glycosylés, stéroïdes aglycones	Jakimiuk <i>et al.</i> , 2021
Troubles digestives	Antispasmodique	Flavonoïdes	Dias <i>et al.</i> , 2021 Magozwi <i>et al.</i> , 2021
Choc cardiaque	Tonicardiaque	Kaempferol, quercetine, corticoïdes	Rahman et Husen, 2021
Fièvre	Diurétique	Flavonoïdes	Zeng <i>et al.</i> , 2019; Cechinel-Zanchett <i>et al.</i> , 2020
Paralysies	Stimulation motrice	Stéroïdes glycosylés, epigallocatechine	Yadav <i>et al.</i> , 2020

4.3 Modes d'actions des extraits des plantes à activités antivenimeuses scorpionique

L'efficacité des plantes contre les piqûres de scorpions peut être due à des effets anti-inflammatoires, anti-pyritiques et analgésiques (Jain *et al.*, 2020). Les principaux composants de certaines plantes utilisées contre l'envenimation scorpionique tels que le β -sitostérol, les flavonoïdes et la quercétine présentent une action anti-inflammatoire et analgésique (Ding *et al.*, 2021). Ces composés peuvent être présents en quantité suffisante chez différentes espèces, ce qui se traduit également par une action remarquable sur les piqûres de scorpions. Un mécanisme possible peut impliquer la complexation des composants avec le venin et l'interdiction ultérieure d'agir sur les récepteurs. Un autre mécanisme peut impliquer un antagonisme ou un métabolisme rapide des catécholamines libérées à la suite de l'interaction du venin avec le récepteur (Nakib *et al.*, 2016 ; Nait Mohamed et Laraba-Djebari, 2021). La sévérité de l'effet d'envenimation peut également être réduite par une stimulation non spécifique du système immunitaire qui aurait comme résultat une neutralisation ou une phagocytose des peptides du venin.

De nombreuses plantes possèdent des propriétés susceptibles de traiter les troubles cliniques lors d'une envenimation scorpionique par plusieurs actions telles que :

Effet symptomatique

L'action symptomatique de certains principes actifs des plantes soulage les patients présentant des troubles venimeux en luttant contre les symptômes observés lors d'une envenimation tel que le bornéol et l'acétate de bornyle pourraient être parmi les plus importants antagonistes de l'effet de l'acétylcholine sur la médullaire surrénale (Tachikawa *et al.*, 2000 ; Park *et al.*, 2003), probablement inhibiteur de la libération massive de catécholamines, qui est l'un des facteurs de la symptomatologie des patients piqués par le scorpion. L'effet de ces composés, plus l'activité de la β -pinène, qui a une activité relaxante démontrée sur un cobaye isolé pourrait expliquer l'antagonisme de l'extrait d'*Aristolochia elegans* sur la contraction induite par le venin de scorpion (Sivaraj *et al.*, 2018).

Action antalgique

L'action du venin est particulièrement douloureuse et nécessite parfois un traitement antalgique vigoureux, et les plantes constituent une source pharmaceutique

infinie, comme l'illustre la découverte de la molécule de tramadol à l'état naturel à partir de la plante *Nauclea latifolia* L. (Inserm, 2013). Les enzymes phospholipases jouent un rôle capital dans la cascade qui entraîne des réactions douloureuses et inflammatoires. L'inhibition de ces enzymes peut soulager l'envenimation du scorpion (Emam et Al-Otabi, 2022).

Action anti-inflammatoire

L'action anti-inflammatoire est la plus courante et la plus répandue. Elle a été observée avec les flavonoïdes, les coumarines, les triterpènes, les stéroïdes autres que les corticoïdes et les saponines (Saudagar et Saokar, 2019). De plus, de nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (Maleki *et al.*, 2019). Autres composés ont montré une activité anti-inflammatoire comme : d-cadinène, 1,8-cinéole, magnoflorine, α -pinène, β -caryophyllène, β -sitostérol et l'acide aristolochique (Kim *et al.*, 2019 ; Ang *et al.*, 2021). Ces derniers exercent leurs effets anti-inflammatoires en inhibant la phospholipase A2, dont l'activation produit la libération des substances inflammatoires dérivées de l'hydrolyse des phospholipides (Giresha *et al.*, 2022).

Action locale

Dans le mode d'action locale on cite divers composés à savoir l'acide valérique qui possède une forte affinité pour les récepteurs GABA, ce qui confère une activité sédatrice aux racines de valériane, de même pour l'acide rosmarinique présent dans les feuilles de mélisse et de sa puissante activité antioxydante. Par ailleurs, d'autres molécules apparaissent comme ayant des propriétés pharmacologiques similaires voire complémentaires. C'est le cas du citral, du β -caryophyllène, du bornéol, de l'eugénol, des acides ursolique et oléanolique (Pineau, 2012 ; Ordaz *et al.*, 2018 ; Sik *et al.*, 2020).

Action diurétique, tonocardiaque

De nombreuses plantes ont des propriétés diurétiques reconnues et sont largement employées dans diverses affections notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque et certains œdèmes. Par ailleurs, on trouve que la

plante *Lavandula officinalis* L. utilisée dans la phytothérapie antivenimeuse (Zahalka, 2010 ; Astaraki *et al.*, 2020 ; Karadağ *et al.*, 2021) est un excellent décontractant musculaire, utilisé aussi en tant qu'antidépresseur, antispasmodique, sédatif et diurétique et comme un tonique (Sarraf *et al.*, 2020). Il a été rapporté aussi que d'autres composés identifiés ont montré une activité vasorelaxante comme : la magnoflorine et le 1,8 cinéole (Lahlou *et al.*, 2002 ; Shaikh *et al.*, 2020 ; Kumar *et al.*, 2020 ; Thibane et Mudau, 2022).

Effet antidote

Cet effet ne peut être confirmé que par une étude expérimentale rigoureuse. Les travaux de Jiménez-Ferrer et ses collaborateurs, (2005) ont prouvé que les extraits de *Bouvardia ternifolia* contiennent de l'ursolique et l'acide oléanolique, qui sont impliqués dans l'activité antitoxine de cette plante. Plusieurs mécanismes pourraient être impliqués dans l'effet antidote des plantes ; la complexation des composés avec le venin et en empêchant sa réaction avec les récepteurs (Astaraki *et al.*, 2020).

Antidotes systémiques

Ils concernent une fonction physiologique cible du venin. Plusieurs modes d'action peuvent être décrits : la compétition (substitution du toxique par l'antidote au niveau du site effecteur), l'antagonisme (action opposée entre l'antidote et le venin sur le même système) (Chippaux, 2002 ; Adaika *et al.*, 2021). Les plantes médicinales ayant un potentiel contre le venin du scorpion contiennent divers types de flavonoïdes, stéroïdes, triterpénoïdes, alcaloïdes, tannins et coumarines. L'activité d'une plante ne peut être attribuée à un seul constituant ; mais elle est due à l'effet synergique de divers constituants sur diverses structures cibles (enzymes et récepteurs). Les constituants chimiques sont généralement multifonctionnels car ils exécutent plus d'un ou des fonctions pharmacologiques simultanément (Nasim *et al.*, 2013 ; Shah *et al.*, 2018 ; Telli *et al.*, 2022).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1 Enquête épidémiologique prospective et ethnobotanique sur le traitement des envenimations scorpioniques dans les régions Marrakech- Safi et Béni Mellal-Khénifra

Afin de déterminer les plantes utilisées pour le traitement des envenimations scorpioniques dans les régions les plus touchées par ce fléau au Maroc, une enquête prospective et ethnobotanique a été menée pendant une année, auprès des personnes victimes de piqûres scorpioniques à l'aide d'un questionnaire (**Annexe I**). Le temps consacré à l'enquête était d'environ 30 minutes pour chaque participant.

1.1 Zones d'étude

Cette étude a été réalisée au niveau de deux régions réputées par leur taux élevé de scorpionisme :

1. La région de Marrakech-Safi limitée au Nord par la région de Casablanca-Settat, à l'Ouest par l'océan Atlantique, à l'Est par la région de Béni Mellal-Khénifra et au Sud par la région de Souss-Massa. La région de Marrakech-Safi s'étend sur une superficie de 39 167 km² et compte 4 520569 habitants selon le 2^{ème} Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH2, 2014). La région compte sept provinces : Chichaoua, Al Haouz, El Kelâa des Sraghna, Essaouira, Rehamna, Safi, Youssoufia et une préfecture, celle de Marrakech. Le nombre de communes est de 215 dont 18 urbaines et 197 rurales. Le climat est aride ou semi aride en général et sub-humide à humide dans l'Atlas et le littoral. La pluviométrie y est très variable, ce qui caractérise la diversité de la situation géographique représentée par la zone de plaine et la zone montagneuse du Haut Atlas sous forme de plateaux étagés. Elle est caractérisée par sa richesse et sa diversité en faune et en flore selon l'Observatoire Régional de l'Environnement et de Développement Durable (OREDD, 2015).

2. La région de Béni Mellal-Khénifra située entre l'Atlas et les provinces littorales atlantiques qui regroupent sur le plan administratif cinq provinces : Azilal, Béni Mellal, Fquih Ben Salah, Khénifra et Khouribga, avec 135 communes dont 16 Municipalités et 119 Communes Rurales. La position géographique de la région de Béni Mellal-Khénifra, lui confère une diversité climatique qui varie d'un climat humide (sommets de la chaîne du Haut Atlas et certains pics du moyen Atlas) à un climat sub-aride en contrebas des massifs montagneux. Le climat dominant est de type continental : très froid en hiver avec des étés

très chauds selon les données de la Direction Générale des Collectivités Locales (D.G.C.L., 2015) (**Figure 6**).

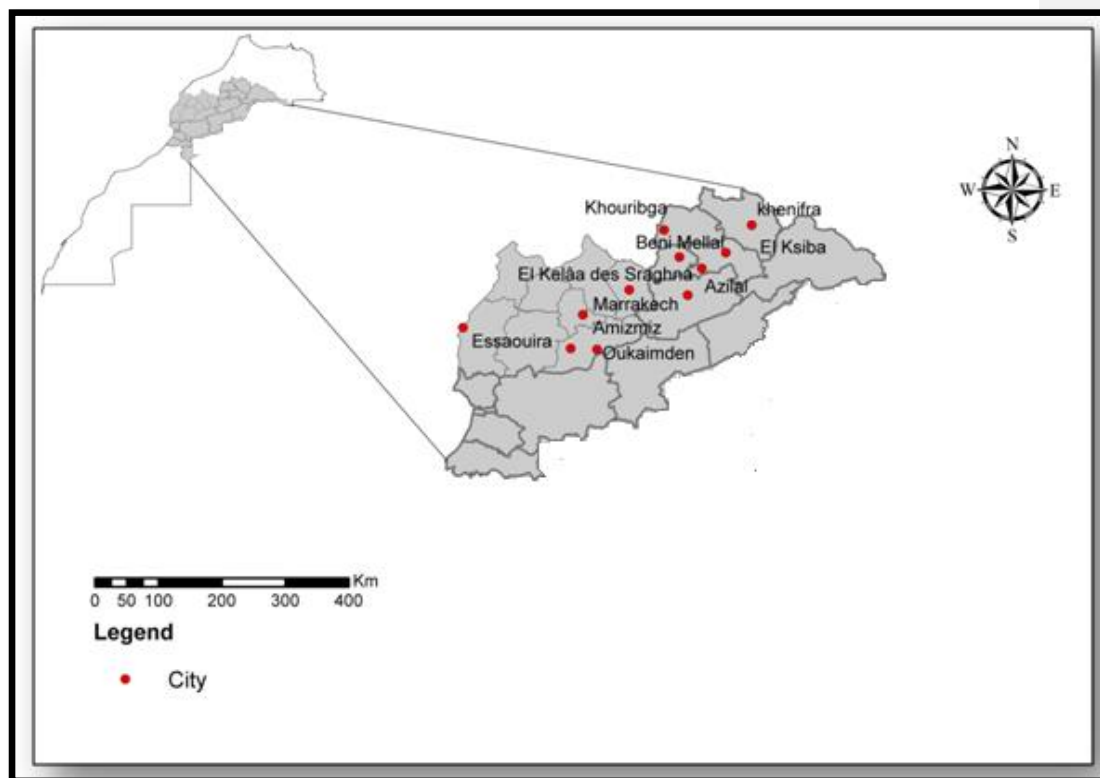


Figure 6: Localisation des deux régions étudiées

1.2 Population et recueil des données

L'enquête a été effectuée au niveau des régions marquées sur la carte ci-dessus (**Figure 6**) entre 2016 et 2017 où on a interrogé les personnes victimes d'une piqûre scorpionique (piquées et traitées).

- **Critères d'inclusion :** Nous avons inclus dans cette étude ethnobotanique toutes les classes d'âges, toute personne déjà envenimée et traitée par l'envenimation scorpionique.
- **Critères d'exclusion :** Sont exclus de l'enquête, toute personne piquée mais n'ayant subi aucun traitement.

Le questionnaire est divisé en quatre parties (**Annexe 1**) permettant de récolter des renseignements sur le patient, sur l'identification du scorpion responsable, sur les circonstances de l'accident. Aussi, des questions liées au type de traitement utilisé (traitement au milieu hospitalier ou par l'utilisation de la médecine traditionnelle basée sur l'utilisation des plantes).

1.3 Validation du questionnaire

Pour évaluer la fiabilité de notre questionnaire (grille d'entretien) nous avons utilisé le test de la consistance interne et la fidélité test-retest qui permettent d'indiquer le degré de répétabilité des scores d'un test en fonction du temps. Cette estimation reflète également la stabilité des caractéristiques évaluées par le test. Dix participants ont rempli le questionnaire deux fois à trois semaines d'intervalle. La corrélation test-retest a montré une bonne stabilité dans le temps avec une cohérence interne et des réponses adéquates ont été observées avec un coefficient alpha de Cronbach de l'ordre de 0.88.

1.4 La taille d'échantillon

La taille d'échantillon a été déterminée à l'aide du logiciel Epi info en choisissant une précision de 5%, un niveau de confiance de 95% et un taux de réponse estimé de 50%. La taille de l'échantillon final requise était de l'ordre de 186 avec une marge d'erreur de 0.49%.

Commentaire [A1]:

1.5 Identification des espèces botaniques

L'identification taxonomique des plantes a été effectuée en se référant à certains ouvrages et catalogues des plantes du Maroc (Kahouadji, 1986 ; Belkhadar, 1997). D'autres ouvrages plus récents ont été utilisés pour la reconnaissance des espèces tels que le Med-checklist (Ducerf, 2018 ; Lüder *et al.*, 2019 ; Delachaux, 2019).

1.6 Considérations éthiques

Dans cette étude nous avons respecté l'anonymat et la confidentialité des données. Les fiches d'investigation et la base de données sont analysées statistiquement et archivées en toute sécurité.

1.7 Analyse statistique

Les données recueillies sont enregistrées dans une base de données, codées, saisies et analysées à l'aide du logiciel SPSS (IBM SPSS STATISTIC 26 : 10-4651F).

➤ Analyse descriptive

Les résultats sont exprimés en fréquence et pourcentage pour les variables qualitatives, et en moyenne +/- d'écart type ou en médiane avec quartiles pour les variables quantitatives.

➤ Analyse univariée

Cette analyse fait appel au test de Chi 2, au test exact de Fisher et au test de Mann-Whitney avec un seuil de signification inférieur à 0,05.

➤ Analyse multivariée

Analyse statistique représentée par le test de corrélation entre les paramètres étudiés dans l'enquête. Seules les variables qui possèdent une corrélation statistiquement significative sont présentées sous forme des tableaux croisés à l'aide du test Pearson Chi-Square.

2 Étude phytochimique des plantes *Thapsia garganica* et *Lactuca serriola*

2.1 Présentation des plantes étudiées

D'après les résultats de l'étude épidémiologique, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique des deux espèces de plantes fréquemment utilisées par la population enquêtée, *Thapsia garganica* et *Lactuca serriola* choisies selon des critères de sélections :

2.2 Critères de sélections des plantes

Un certain nombre de critères ont été pris en compte pour sélectionner avec soin les plantes à étudier, parmi ces critères leur utilisation en médecine traditionnelle. Pour cela une étude ethnobotanique a été réalisée sur les plantes pouvant avoir une activité antivenimeuse et c'est le critère principal qui domine notre choix (Younis *et al.*, 2018 ; Colalto, 2018). Par ailleurs, plusieurs plantes employées en médecine moderne ont été

découvertes par l'intermédiaire d'investigations ethnobotaniques (Andary *et al.*, 2019; Dahmoune-akkouche, 2021), afin d'intégrer de nouvelles molécules et de nouvelles voies d'applications thérapeutiques ayant un fort potentiel d'activité du fait de leurs usages traditionnels largement répandus.

Ainsi, les indications du guérisseur traditionnel et les résultats de l'enquête qui certifie l'usage empirique des différentes préparations traditionnelles des plantes, sont donc extrêmement importantes pour une sélection efficace.

On cite aussi entre les critères la chimiotaxonomie ou la classification des plantes en fonction de leurs métabolites secondaires. De ce fait, on a procédé à une recherche approfondie dans la littérature qui nous a permis d'avoir des connaissances sur leur contenu phytochimique, qui est très riche en principes bioactifs responsables de l'activité recherchée (Fatah *et al.*, 2020; Benseddik, 2021).

D'une part l'étude ethnobotanique nous a permis d'établir une liste préliminaire de plantes potentiellement intéressantes à des fins thérapeutiques antivenimeuses peu ou pas étudiés jusque là. D'autre part, les critères de sélections des plantes nous a permis la sélection des deux plantes *Thapsia garganica* (feuilles et racines) et *Lactuca serriola* (parties aériennes) pour des études ultérieures.

2.2.1 *Thapsia garganica* (John Sibthorp, 1787)

a. Identification botanique

C'est une plante vivace, à tige florifère dressée, peu ramifiée, atteignant environ 1,50 m de haut. Elle possède de grandes feuilles en touffes, très découpées à division linéaires pourvues d'un pétiole en gaine à la base, les supérieurs sont réduits à la gaine épaisse, d'un vert grisâtre comme la tige. Les fleurs sont de petites tailles, jaunes, et disposées en grandes ombelles presque sphériques. Les fruits sont ovales, atteignent plus de 2 cm de longueur, largement ailés. Les racines sont en forme de rhizomes. La floraison a lieu entre Avril et Juillet (Benseddik, 2021) (**Figure 7**).

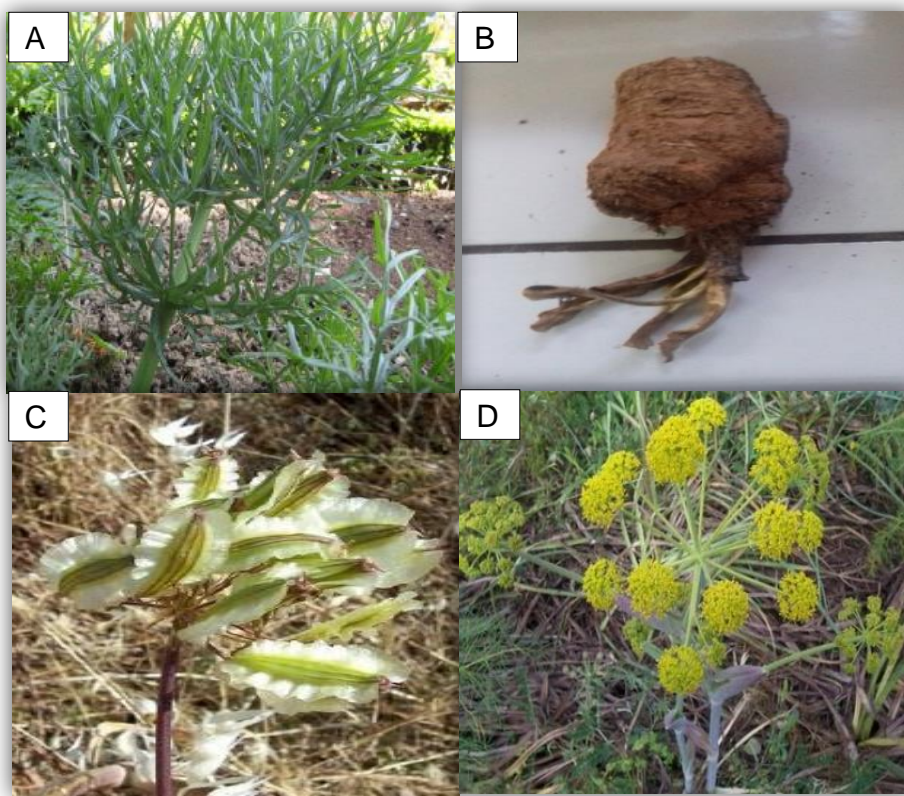


Figure 7: Les différentes parties de *Thapsia garganica*
(A : Feuilles; B: Racine; C: Fruits; D: Fleurs)

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

Genre : *Thapsia*

Espèce: *Thapsia garganica* (John Sibthorp, 1787)

b. Usage thérapeutique

Thapsia garganica L. est appelé aussi « Aderias » en Amazigh ou « Bounafaa » en arabe. La résine de ses racines et de ses tiges est souvent utilisée comme remède contre certaines maladies comme la stérilité féminine, la fièvre, les pneumonies et pour le

soulagement des douleurs rhumatoïdes (Miara *et al.*, 2019). Elle est également utilisée comme anti-irritant et dans le traitement des maladies pulmonaires et du catarrhe (Alilou et Akssira, 2021). La résine à la pharmacopée française en 1937 servait à préparer divers papiers révulsifs, sparadraps et topiques utilisés en usage externe. Au Maroc, les *Thapsia spp* sont utilisées dans la médecine traditionnelle surtout comme révulsif et plus rarement comme purgatif drastique (Khamadj et Dahmani, 2019). La plante a fait l'objet de plusieurs études dans le traitement du cancer de la prostate (Jaskulska *et al.*, 2020). Les chercheurs ont conçu à partir de la thapsigargine, l'un des principes actifs du *Thapsia*, la pro-drogue G202 hydrolysée par une carboxypeptidase membranaire spécifique des cellules cancéreuses de la prostate. Cette hydrolyse active la G202 qui inhibe la pompe SERCA ce qui induit la mort de ces cellules (Jaskulska *et al.*, 2020 ; Mahmood *et al.*, 2021). On l'utilise aussi mélangée à la farine en cataplasmes contre les morsures d'animaux venimeux ou enragés (Bammi et Douira, 2002 ; Bellakhdar, 1997).

c. Répartition géographique de *Thapsia garganica*

Thapsia garganica est une plante méditerranéenne présente au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye (Dobignard et Chatelain, 2010 ; Zahaf *et al.*, 2019), mais aussi en Turquie, en Espagne, au Portugal, en Italie et en Grèce (Skuhrová *et al.*, 2020).

Au Maroc, dans la région de l'Achach, elle apprécie les clairières forestières, les pâturages sablonneux et rocaillieux, les steppes, dans la plaine et les basses montagnes (Bammi et Douira, 2004).

d. Récolte et authentification de l'espèce

La plante est collectée dans la région d'Amizmiz (54 Km Sud-Est de Marrakech) (31,2185 ; -8,2404), au mois de Mai, période pendant laquelle la plante possède le maximum d'éléments actifs (Berri, 2011 ; Djahida et Houcine, 2021). L'identification taxonomique du matériel végétal a été authentifiée par Pr. Ahmed Ouhammou responsable de l'herbier régional Mark de l'Université Cadi Ayyad Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech. Un échantillon de la plante entière de *T. garganica* est également informatisé dans une base de données, avec le spécimen d'herbier « voucher » correspondant (MARK10013). Les feuilles et les racines de *T. garganica* (**Figure 7**) sont séchées au laboratoire à l'ombre, tout en évitant la poussière et l'humidité, pour garder leurs propriétés pharmacologiques. Après séchage, les feuilles, contenant la majorité des

principes actifs, sont détachées facilement. Ensuite, les deux parties de la plante sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui sera tamisée pour obtenir à la fin celle d'un diamètre inférieur à 63 μ m.

2.2.2 *Lactuca serriola* (Linné, 1756)

a. Identification botanique

Lactuca serriola est une plante herbacée, annuelle, dressée, à racine pivotante et une tige érigée de 0,5 à 1,2 mètres de hauteur. Les feuilles sont pennatilobées, auriculées, plus ou moins découpées, à pourtour épineux, vrilles, de couleur verte, à limbe parcouru d'un fin réseau de nervures blanchâtres uniformément denticulées-épineuses (Fennane *et al.*, 2014 ; Chadha, Florentine, 2021). Dans un capitule, les fleurs sont toutes ligulées, jaunes. Les fruits sont de petits akènes grisâtres à pappus blanc (**Figure 8**). *L. serriola* présente la particularité d'orienter ses feuilles selon l'axe Nord-Sud, dans un plan perpendiculaire au sol, ce qui la protège contre la brûlure du soleil et limite l'évaporation ce qui lui a valu le nom de « plante boussole » (Lebeda *et al.*, 2019; Abdul-Jalil, 2020).



Figure 8: Feuilles, fleurs, fruits de la plante *Lactuca serriola*

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : magnoliopsida

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : *Lactuca*

Lactuca serriola (Linné, 1756).

Espèce :

b. Usage thérapeutique

L. serriola appelée aussi Assafar n-sem en amazigh et Âchbat sem en arabe est utilisée en médecine traditionnelle pour différents traitements comme stomachique pour purifier le sang, guérir la bilieuse, dans la sensation de brûlure, maux de tête, troubles du nez (Salih, 2019 ; Lebeda *et al.*, 2019) et comme diurétique, émollient et anticonvulsivant (Bouimeja *et al.*, 2019 ; Awan *et al.*, 2020). *L. serriola* possède des propriétés sédatives et hypnotiques qui calment l'excitation nerveuse et provoquent le sommeil. Elle est également, caractérisée par des vertus antispasmodiques qui calment les spasmes, avec des activités émollientes qui réduisent l'inflammation (Qasem, 2015 ; Abd El Gawad *et al.*, 2019). C'est un excellent remède contre les troubles digestifs, les spasmes gastriques, en cas d'anémie, de constipation, d'insomnie et d'anxiété. Elle est efficace contre la toux irritante, la bronchite, la coqueluche, et les affections cutanées inflammatoires (Alshathly et Elsharkawy, 2014 ; Bubenchikov *et al.*, 2020). *L. serriola* est également utilisée pour traiter les morsures de serpents et les piqûres de scorpions (Bellakhdar, 1997). Des études biologiques et phytochimiques ont permis de confirmer l'activité cytotoxique sur des lignées cellulaires cancéreuses humaines (Kim *et al.*, 2007 ; Salih, 2019). Les feuilles de *Lactuca serriola* sont riches en vitamines, en sels minéraux et en lactones sesquiterpéniques qui améliore l'appétit et soulage l'inflammation (Rasul *et al.*, 2020; Ali, 2021). Alors que dans la racine on trouve de lactucine, de lactucopicrine aussi très riche en antioxydants tel que : la quercétine, l'acide caféique et les caroténoïdes (khalid *et al.*, 2013 ; Abd ElGawad *et al.*, 2019).

c. Répartition géographique de *Lactuca serriola*

Lactuca serriola est présente dans le monde entier, en Europe, au Nord de la Scandinavie, d'Afrique du Nord, dans les régions tempérées d'Asie occidentale et centrale (Carter et Prince, 1985) et d'Australie (Amor, 1986a). On la trouve également partout aux États-Unis, à l'exception du Nord du Maine et du Sud de la Floride (Uva *et al.*, 1997). On la trouve dans tous les pays Africains, le plus fréquemment à des altitudes élevées et pendant la saison fraîche. *L. serriola* est originaire d'un climat méditerranéen sec en été. Au Maroc, on trouve *L. serriola* partous dans le pays sur de petites superficies (Beharav *et al.*, 2018).

d. Récolte et authentification de l'espèce

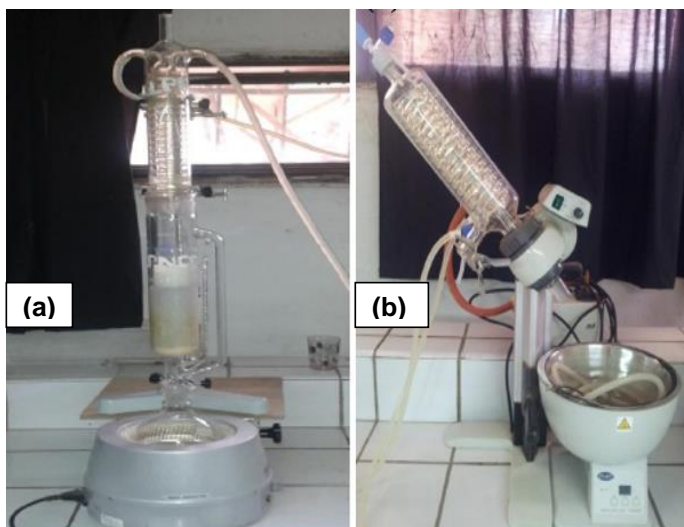
La plante a été collectée à Had Ras El Ain au sud d'El Kelaa des Segharna (32.979832, -7.393713) en plein champ sur des sites agricoles non contaminés, au mois d'Avril (période de floraison de la plante) (Chadha *et al.*, 2021). L'identification taxonomique du matériel végétal a été authentifiée par Pr. Ahmed Ouhammou responsable de l'Herbarium de l'Université Cadi Ayyad, de la faculté des sciences Marrakech. Un échantillon des différents organes de la plante est également enregistré dans une base de données avec le spécimen d'herbier « voucher » correspondant (MARK10940). Les parties aériennes de la plante à l'état frais ont été collectées et nettoyées sous l'eau courante, séchées au laboratoire à l'ombre puis broyées afin d'obtenir une poudre fine de la plante qui servira à l'extraction.

3 Obtention des extraits méthanoliques des plantes étudiées

Pour l'obtention des extraits méthanoliques des plantes étudiées nous avons utilisé :

- 100 g de poudre des parties aériennes de *L. serriola*.
- 100 g de poudre de feuilles de *T. garganica*.
- 100 g de poudre de racines de *T. garganica*.

Les extraits méthanoliques sont obtenus par extraction à l'aide de l'appareil de soxhlet (**Figure 9a**). On introduit 100 g de poudre de la plante dans la cartouche filtrante et 500 ml de solvant dans le ballon. Cette extraction en continu est menée jusqu'à extraction totale des composés extractibles pendant 24 heures. L'extrait récupéré, filtré par papier filtre sans cendre (Wattman N°4) et l'évaporation du solvant est réalisée à l'aide d'un évaporateur rotatif (**Figure 9b**), puis conservé à 4°C jusqu'à son utilisation (Hamdi *et al.*, 2017).



al.,

Figure 9: Obtention des extraits de plantes à l'aide du Soxhlet (a)
Evaporation du solvant par un évaporateur rotatif (b)

3.1 Détermination du rendement des extraits des plantes étudiées

Le rendement des extraits est déterminé en pourcentage de la masse de l'extrait obtenu par rapport au poids de la matière sèche utilisée après élimination de toute trace de solvant. Il est calculé en utilisant la formule suivante :

$$R (\%) = (P_{bp} - P_{bv}) \times 100 / PMS$$

P_{bp} : Poids du ballon plein en extrait de plante

P_{bv} : Poids du ballon vide

PMS: Poids de la matière sèche de la plante

3.2 Screening phytochimique

Des tests en tube sont réalisés sur les extraits végétaux obtenus afin de déterminer de manière préliminaire les classes phytochimiques contenues dans les plantes analysées. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation ainsi que sur des examens sous lumière ultraviolette.

3.2.1 Les flavonoïdes

La réaction à la cyanidine a permis de détecter la présence des flavonoïdes. 5 g de plante sont extraits (soxhlet) par 30 ml d'éthanol pendant 1 heure. Dans un tube à essai, à 5 ml d'extrait, 1ml d'acide chlorhydrique est ajouté à 0.5g de Magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge signifie la présence des flavonoïde (Blaise *et al.*, 2021).

3.2.2 Les terpènes et les stérols

Les terpènes et les stérols ont été déterminés par la réaction de Liebermann. 1ml de chaque extrait est ajouté à 1ml d'un mélange d'anhydride acétique. Après agitation, le résidu obtenu est chauffé jusqu'à ébullition. Après refroidissement, 0.5 ml d'acide sulfurique concentré est ajouté avec précaution. L'apparition d'une coloration verte indique la présence des terpènes et des stérols (Wutsqa *et al.*, 2021).

3.2.3 Les tanins (galliques ou cathéchiques)

Pour détecter les tannins, à 1 ml d'extrait de chaque échantillon on a ajouté 2 ml d'H₂O et 2 à 3 gouttes de FeCl₃ (1%). En présence des tanins, une coloration bleu-noire (tanins galliques) ou bleu-vert (tanins cathéchiques) se développe (Hamadou *et al.*, 2018).

3.2.4 Les saponines

La présence des saponines a été mise en évidence par le test de mousse. Dans un tube à essai, 5 ml de chaque extrait a été ajouté. Après agitation de 15 secondes, la formation d'une mousse stable dans le milieu réactionnel pendant plus de 15 min indique la présence des saponines (Ndjolo *et al.*, 2018).

3.2.5 Les anthocyanes

Pour le criblage des anthocyanes, à 2 ml d'extrait des plantes étudiées, on a ajouté 2 ml d'HCl (2N) et quelques gouttes d'ammoniac. La présence d'anthocyanes est déterminée suite à la coloration qui s'accroît par acidification puis vire au bleu violé en milieu basique (Kallo *et al.*, 2018).

3.2.6 Les quinones

Pour procéder au screening des quinones, 2 ml de chloroforme sont ajoutés à 2 g de la plante avec 2 ml d'HCl (0.1 N). Après 2h d'incubation, le mélange réactionnel est agité avec 5 ml d'ammoniaque à 50%. Une coloration rose, rouge ou violacée s'apparaît si la réaction est positive (Bashige *et al.*, 2020).

3.2.7 Les alcaloïdes

Pour révéler la présence des alcaloïdes, 1 ml d'extrait a été ajouté à 5 ml d'HCl (2N) et 2 à 3 gouttes de réactifs de Dragendorff. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration orange indique la présence des alcaloïdes dans notre échantillon (Narmada *et al.*, 2020).

3.2.8 Les coumarines

Pour détecter la présence des coumarines, 1 ml d'extrait est placé dans un tube à essai et recouvert avec un papier imbibé de NaOH (1N) et porté à ébullition pendant 10 min. L'observation d'une fluorescence jaune témoigne la présence des coumarines après examen sous UV (Khalil et Mustafa, 2020).

3.3 Analyse phytochimique quantitative

3.3.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits a été déterminée en se basant sur la méthode de Folin-Ciocalteu suivant le protocole décrit par Lister et Wilson (Lister et Wilson, 2001). Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Les deux acides sont réduits, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) (Chedea et Pop, 2019). L'intensité de cette coloration renseigne sur le contenu en polyphénols totaux dans le mélange.

Une prise de 100 μ l d'extrait [0.1 mg/ml] est mise en présence de 750 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 1/10. Après agitation vigoureuse et repos du mélange pendant 5 mn à 22°C, 750 μ l d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% sont ajoutés. L'absorbance, par référence à une gamme étalon obtenue avec l'acide gallique (0 - 0.3mg/ml) est mesurée à 760 nm après 90 min d'incubation. Les résultats sont exprimés en équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (GAE/g ES).

3.3.2 Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits bruts est déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium décrite par Yu *et al.* 2021. Le principe de la méthode est basé sur

l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium et la soude, entraînant ainsi la formation d'un complexe rose qui absorbe à 510 nm. Une prise de 500 µl d'extrait diluée est mise dans un tube en présence de 2 ml d'eau distillée additionnée de 150 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2 à 5%). Après 6 min d'incubation à température ambiante, 150 µl d'une solution fraîchement préparée de chlorure d'aluminium (AlCl_3 à 10%) sont ajoutés au mélange. Ensuite, on a ajouté à ce dernier 2 ml d'une solution de NaOH à 4% après 6 min de repos, puis on a ajusté le volume final à 5 ml avec de l'eau distillée. L'intensité de la couleur rose est mesurée à 510 nm après 15 min d'incubation. Une gamme étalon à base de catéchine est également préparée dans les mêmes conditions. Les résultats sont exprimés en équivalent de catéchine par gramme d'extrait sec (CAT/g ES).

3.3.3 Dosage des tanins condensés

L'estimation du contenu en tannins condensés également connus sous le nom de proanthocyanidines (dérivés polymériques de flavan-3-ol) consiste à une dépolymérisation de ces molécules en milieu acide suivit d'une formation d'anthocyanidols en présence de vanilline analysables à 500 nm. Ainsi, 100 µl d'échantillon sont ajoutés à 1 ml de (Vaniline-MeOH) à 4% et 0,5 ml de l'acide chlorhydrique (HCl). Après 15 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 500 nm (Mesmin *et al.*, 2018).

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent en catéchine par gramme d'extrait sec (mg Eq. Cat/g ES).

4 Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

L'identification des composés phénoliques a été réalisée par HPLC à l'aide d'un appareil KNAUER avec une colonne (Eurospher II 100-5 C18, 250 × 4,6 mm) équipée d'une pompe (K/1001) et d'un détecteur à barrette diodes (200-700 UV-vis), un eurospher II (100-5 C18), et une pré-colonne couplée à un détecteur UV (PDA). La phase mobile est constituée d'un mélange de solvant A = acétonitrile et un solvant B = eau de phosphate (pH=2,6), 5/95, v/v). Le volume d'injection est de l'ordre de 10 µl avec un débit de 1

ml/min et une pression de 125 Bar. Pour le traitement des données on a utilisé le logiciel Clarity Chrom. Les composés phénoliques sont détectés à 280 nm.

4.1 Analyse qualitative

L'analyse qualitative consiste à identifier un ou plusieurs composés d'un mélange inconnu injecté. Pour ce faire, il faut utiliser des composés soupçonnés d'être présent dans l'échantillon. Chaque composé est caractérisé par son temps de rétention RT (min).

Les composés phénoliques ont été identifiés en comparant les pics trouvés à des étalons de composés standards (10 µl) (acide ascorbique, acide gallique, acide tanique, acide caféique, acide sinapique, épicatechine, O-coumarique, acide P-coumarique, acide sorbique, quercétine, acide ferrique, thapsigargine, rutine, acide chlorogénique) pour s'assurer que le pic correspondant au composé déterminé (Ghnimi *et al.*, 2014). L'élution des composés phénoliques a été déterminée à une température de 25 °C pendant 60 min après application du gradient présenté dans le **Tableau 4**.

Tableau 4 : Gradient d'élution des composés phénoliques par HPLC

Temps (min)	A (%)	B (%)
Initial	95	5
10.00	87	13
13.00	82	18
20.00	82	18
23.00	75	25
35.00	75	25
40.00	70	30
41.00	15	85
50.00	10	90
52.00	5	95
53.00	5	95
54.00	0	100
59.00	0	100
60.00	95	5

4.2 Analyse quantitative

L'analyse quantitative consiste à déterminer la concentration d'un ou de plusieurs composés du mélange inconnu, une fois que ces composés sont identifiés. La méthode repose essentiellement sur la détermination de la surface ou de la hauteur des pics. Ensuite, on détermine la concentration des composés de notre mélange par la méthode de la courbe d'étalonnage.

Pour ce faire, une courbe d'étalonnage d'acide gallique à quatre concentrations différentes (0.15 mg/ml - 0.25 mg/ml - 0.5 mg/ml – 1 mg/ml) a été réalisée. Les différents composés phénoliques ont été quantifiés par projection sur la courbe d'étalonnage de l'acide gallique de concentration connue. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g ES).

5 Etude des activités biologiques des extraits de *T. garganica* et *L. serriola*

- **Matériel biologique de l'étude *in vivo* (Souris mâle *Suisse Albinos*)**

Des souris (poids 25 ± 2 g) âgées de trois mois fournis par l'animalerie de la Faculté des Sciences Semlalia Marrakech, sont utilisées pour la détermination de la DL_{50} par injection sous-cutanée. Elles sont maintenues dans des cages transparentes avec accès *ad libitum* à la nourriture et à l'eau et soumises à une photopériode de 12 h de lumière (7 à 19 h) et 12 h d'obscurité (19 à 7 h) sous une température de ($22 \pm 1^\circ\text{C}$). Durant cette étude, nous avons veillé à travailler dans des conditions d'éthiques adoptés par l'Organisation Mondiale Sanitaire pour l'utilisation des animaux de laboratoire. La procédure a été menée (8-17 h) conformément au protocole institutionnel selon la loi sur les animaux de 1986 du Conseil Européen Directive : 86/609 CEE, qui est approuvé par une éthique locale de comité des Laboratoires de recherches de la Faculté de Sciences, Université Cadi Ayyad, Marrakech, afin de réduire au maximum toute souffrance pour l'animal ainsi que le nombre des animaux ne dépasse pas les exigences statistiques de l'expérience (**Figure 10**).



Figure 10: Souris mâles *Swiss*

6 Évaluation *in vivo* de la toxicité aiguë des différents extraits des plantes étudiées par voie orale chez les souris

6.1 Étude de la toxicité aiguë

La dose létale médiane (DL_{50}) est la valeur statistique d'une substance chimique qui provoque la mort de 50% d'une population donnée par la voie d'administration choisie et dans des conditions expérimentales définies (Pillai *et al.*, 2021).

Pour qu'un extrait de plante possédant des effets pharmacologiques puisse éventuellement être recommandé comme traitement, il est d'abord nécessaire que son activité apparaisse à des doses non toxiques.

Pour les deux plantes, trois lots ont été répartis en 3 groupes de cinq souris chacun, (au total 15 souris/lot) qui sont maintenues à jeun pendant 24 h avant qu'elles reçoivent les différentes doses uniques par voie orale (gavage gastrique). Les souris du lot témoin ont reçu uniquement de l'eau physiologique (NaCl à 0.9%). Les doses des lots traités sont indiquées dans le **Tableau 5**.

Tableau 5: Doses des plantes utilisées dans le test de toxicité aiguë

	Doses des plantes étudiées		
Extraits méthanoliques	Feuilles de <i>T. garganica</i>	Racines de <i>T. garganica</i>	Parties aériennes de <i>L. Serriola</i>
Doses	1- 3 et 5 g/kg	0.1- 0.3 et 0.7 mg/kg	0.5- 2 et 5 g/kg

La prise du poids et l'observation des éventuels changements physiques ou comportementaux (hypersalivation, convulsions, faiblesse, hérissément du poil, toilettage excessif et tachycardie) a été enregistrés chaque heure durant les premières 24 heures, puis tous les jours pendant 14 jours, ainsi que la létalité. La réalisation d'une courbe donnant le pourcentage de mortalité en fonction du logarithme de la dose conduit à une courbe dite courbe de Trevan à partir de laquelle on a pu déterminer la DL₅₀.

6.2 Étude de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination de l'activité antioxydante des extraits phénoliques. La plupart de ces tests reposent sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Notre étude est basée sur trois tests : le test du piégeage du radical DPPH, le pouvoir réducteur et l'inhibition du blanchiment du β -carotène. Des modifications sont apportées afin de les optimiser et de les adapter à notre étude.

6.2.1 Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

L'activité anti-radicalaire des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH est réalisée selon la méthode décrite par Zbadi et *al* (2018). Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil). Ce dernier, d'une couleur violette est réduit en 2,2-diphényl -1- picryl hydrazine de couleur jaune en captant un atome d'hydrogène.

Dans des tubes à essai, on introduit 2,5 ml des différentes concentrations de chaque extrait et 0.5 ml d'une solution méthanolique de DPPH à une concentration de 0.2 mM. Après agitation, le mélange réactionnel est mis en obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. Ensuite la lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm. L'activité antioxydante des extraits est exprimée en concentration inhibitrice de 50% (CI₅₀). Ce paramètre est défini comme étant la concentration de l'antioxydant qui cause l'inhibition de 50% de l'activité de DPPH. Les valeurs des CI₅₀ moyennes sont calculées selon la formule suivante :

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

Avec :

I% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire

Abs contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif

Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon

Un blanc contenant la même quantité de méthanol et de DPPH a été utilisé comme contrôle négatif. L'hydroxytoluène butylé (BHT) et la quercétine sont utilisés comme témoins positifs avec des concentrations allant de l'ordre de 0,48 à 1000 µg/ml. La concentration de l'échantillon responsable de l'inhibition de 50 % (CI₅₀) est calculée à partir du graphique présentant les pourcentages d'inhibition par rapport aux concentrations de l'échantillon. La valeur de CI₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée.

6.2.2 Test du pouvoir réducteur

Le potentiel réducteur de l'extrait est déterminé selon la méthode décrite par El Moussaoui *et al.*, (2019). Dans un tube à essai contenant 1 ml de solution d'échantillon, 2.5 ml de tampon phosphate (0.2 M, pH 6,6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium (K₃Fe(CN)₆ à 1%) sont ajoutés. Après incubation à 50 °C pendant 20 min, 2.5 ml d'acide trichloroacétique à 10% (TCA) sont ajoutés au mélange et centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min. Ensuite, 2.5 ml de surnageant sont mélangés avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml de chlorure ferrique à 0.1% (FeCl₃). L'absorbance est mesurée à 700 nm et la CI₅₀ est calculée.

6.2.3 Test de blanchissement du β-carotène

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes suite à l'abstraction des atomes d'hydrogènes à partir de groupement méthylènes diallyliques de l'acide linoléique (Loucif *et al.*, 2020). Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β-carotène hautement insaturé qui perd ses doubles liaisons entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge à 490 nm. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique, et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β-carotène (Boudehane *et al.*, 2019).

Une émulsion du β-carotène/acide linoléique est préparée par solubilisation de 2 mg de β-carotène dans 20 ml de chloroforme. Ensuite, 4 ml de cette solution sont ajoutés à 40 mg d'acide linoléique et 400 mg de tween 40. Après évaporation du chloroforme (40°C), 100 ml d'eau distillée oxygénée sont ajoutés. Après agitation, des aliquotes de 10 µl d'extrait à

différentes concentrations sont placés dans une plaque à 96 puits en présence de 150 µl d'émulsion. Deux témoins (positif où l'échantillon est remplacé par l'antioxydant de référence (Quercetine et BHT) et négatif sans antioxydant) sont aussi préparés en suivant la méthode décrite par Koleva *et al.* (2002). Les microplaques sont alors mises en incubation à 50°C pendant 120 min et l'absorbance est mesurée (à t = 0 et t = 120 min) à 490 nm grâce à un lecteur de microplaques. Le pourcentage d'inhibition (I %) est calculé comme suit :

$$I\% = \frac{(A_{\text{Echantillon 2h}} - A_{\text{Témoin 2h}})}{(A_{\text{initial témoin}} - A_{\text{Témoin 2h}})} \times 100\%$$

$A_{\text{Echantillon 2h}}$, $A_{\text{Témoin 2h}}$ sont les valeurs d'absorbance de β -carotène après 2 h restant dans les échantillons. Un $A_{\text{initial témoin}}$ est les valeurs d'absorbance de β -carotène au début de l'expérience. L'activité est calculée comme étant une concentration d'inhibition de 50 % (CI_{50}).

6.3 L'activité analgésique

Pour évaluer l'activité analgésique périphérique des plantes étudiées, la douleur est provoquée par des stimuli chimiques (acide acétique et formaldéhyde), alors que pour l'activité analgésique centrale, la douleur est provoquée par des stimuli thermiques (plaque chauffante) (Yimer *et al.*, 2020).

6.3.1 Test de la plaque chauffante

Ce test consiste à étudier la réaction de l'animal suite à une stimulation nociceptive thermique de courte durée afin d'évaluer les propriétés analgésiques éventuelles des différentes molécules des plantes étudiées.

Le dispositif utilisé est une plaque métallique chauffante dont la température atteint $55 \pm 4^\circ\text{C}$, sur laquelle se trouve un cylindre en polyester (13 x 17 cm). Le test consiste à mettre l'animal sur la plaque chauffante (**Figure 11**), le temps de latence que met l'animal pour lécher l'une de ses pattes ou pour sauter est enregistré et considéré comme le temps de réaction. La durée de ce test ne doit pas dépasser les 20 secondes pour ne pas endommager le tissu cutané des pattes des souris (Purma et Venkateshwara, 2013 ; Deng *et al.*, 2021).

Les animaux sont répartis en 4 lots de 5 souris. Le lot témoin a reçu de l'eau distillée, alors que les lots testés sont traités par l'extrait des plantes aux doses de 150, 300 mg/kg et ceux

de référence par de la morphine (10 mg/kg du poids corporel). Juste après l'administration des extraits, les souris sont placées l'une après l'autre sur une plaque chauffante. Le temps de latence mis par les souris avant de réagir est enregistré. L'augmentation du temps de latence des animaux traités en comparaison avec les animaux témoins traduit l'action analgésique des produits testés.



Figure 11: Dispositif de la plaque chauffante

6.3.1 Test au formol

Ce test est réalisé chez les souris selon le protocole décrit par (Miranda *et al.*, 2001) qui consiste à injecter une solution de formol diluée à 2% (20 μ l/ souris) dans la plante de la patte postérieure des animaux ayant préalablement reçu la solution testée ou la solution témoin. Cinq groupes de cinq souris sont traités comme suit : un groupe témoin négatif qui a reçu de l'eau distillée (0,5 ml/100 g du poids corporel) ; un groupe témoin positif traité par l'acide acétylsalicylique (200 mg/kg du poids corporel) comme molécule de référence, et les groupes traités par les extraits des plantes étudiées à des doses de 150 et 300 mg/kg du poids corporel.

Après l'injection du formol, les animaux sont placés dans une enceinte de plexiglas transparente. Le temps de léchage de la patte lésée est mesuré pendant 30 min. La réponse nociceptive est représentée par le cumul du temps de léchage de cette patte dans la phase précoce (0-5 min) et dans la phase tardive (15-30 min). L'effet analgésique est évalué par le pourcentage de protection contre la douleur (**Figure 12**).

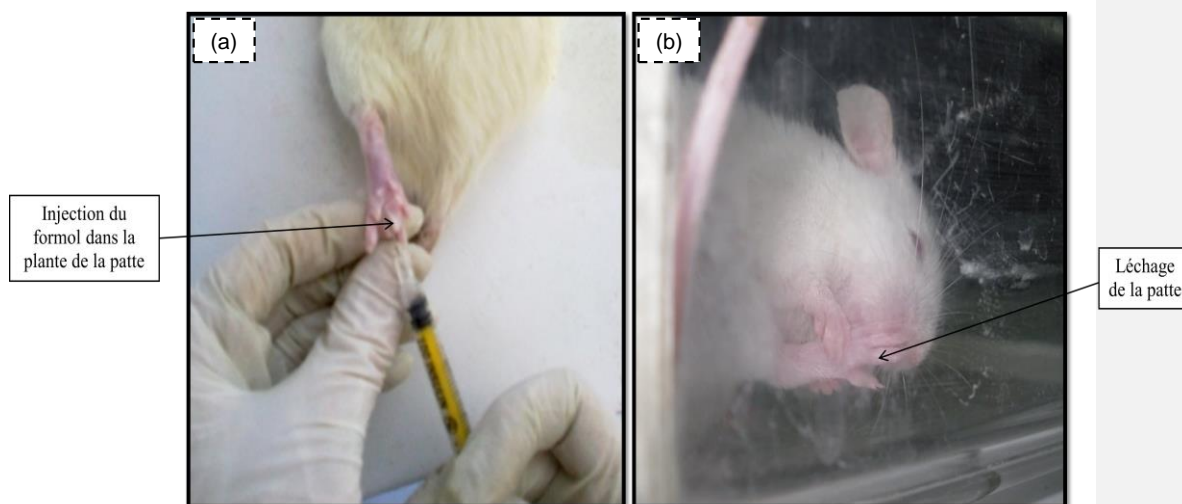


Figure 12: Souris lèche sa patte droite (b) après l'injection du formaldéhyde (a)

6.3.2 Test de contorsion

Ce test consiste à induire une action algogène par l'administration de l'acide acétique à une concentration de 0,6% (0,1 ml / 10 g du poids corporel) par voie intrapéritonéale. Cette action provoque une sensation de douleur qui se manifeste, chez la souris, par un mouvement d'étirement des pattes postérieures et de torsion de la musculature dorso-abdominale, (crampes abdominales) (Yu *et al.*, 2022).

Cinq groupes de cinq souris chacun sont traités comme suit : un groupe témoin négatif qui a reçu de l'eau distillée à 0,5 ml/100 g du poids corporel ; un groupe témoin positif traité par l'ASA (200 mg/kg du poids corporel) comme molécule de référence, et trois groupes traités par l'extrait méthanolique des plantes étudiées à des doses de 150 et 300 mg/kg. L'effet analgésique des extraits étudiés administrés par voie orale 30 min avant l'injection de l'acide acétique est déterminé par le dénombrement des torsions abdominales au cours des 30 minutes suivantes (Kharatt *et al.*, 2013) (**Figure 13**).

L'activité est exprimée en pourcentage d'inhibition de la douleur pour chaque groupe traité aux différentes doses.

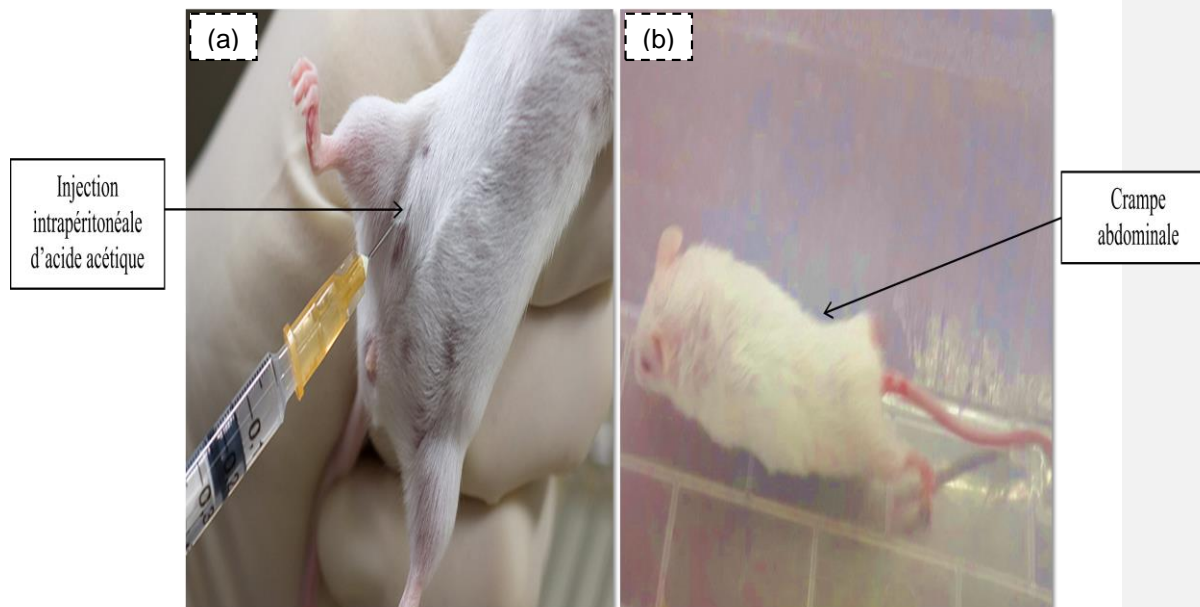


Figure 13: Contorsion d'une souris (b) après injection intrapéritonéale d'acide acétique (a)

6.4 Étude de l'activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des extraits étudiés est menée suivant la méthode décrite par Fitri *et al.* (2021). Trois lots de 5 souris ont reçu les extraits des feuilles, des racines de *T. garganica* et des parties aériennes de *L. serriola* par voie orale à des doses de 150, et 200 mg/kg de poids corporel une heure avant l'injection de la carragénine. L'inflammation aiguë est induite par l'injection de la carragénine à 1% (NaCl à 0,9 %) sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure droite de la souris (**Figure 14**). Les mesures du volume de la patte sont effectuées avant l'injection de la carragénine (**Figure 16a**) et au bout de 1,3 et 5 heures après l'injection (**Figure 16b**) à l'aide du pied à coulisse (**Figure 15**). Le groupe témoin a reçu un anti-inflammatoire (Diclofénac 75mg/3ml). L'importance de l'œdème est appréciée par la détermination de la moyenne du pourcentage d'augmentation (% AUG) du volume de la patte de souris selon la formule suivante :

$$\%AUG = \frac{V_t - V_0}{V_0} * 100$$

Avec : V_t : Volume de la patte au temps t ; V_0 : Volume initial de la patte

L'activité anti-inflammatoire est évaluée par le calcul du pourcentage d'inhibition (%INH) de l'œdème chez des souris traitées par rapport aux témoins selon la formule :

$$\%INH = \frac{\%AUG_{\text{témoin}} - \%AUG_{\text{traité}}}{\%AUG_{\text{témoin}}} \times 100$$

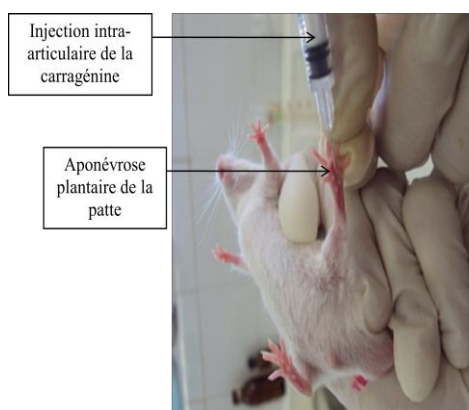


Figure 14 : L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte d'une souris

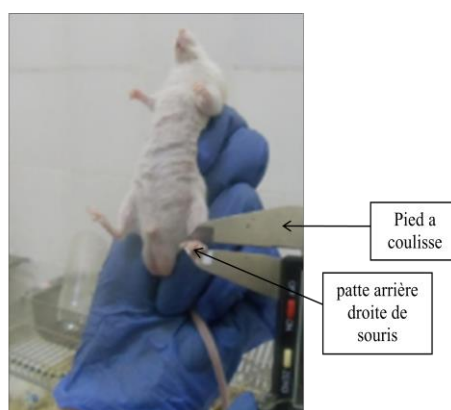
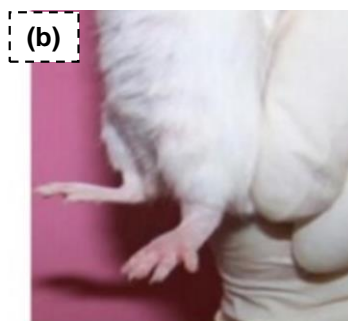


Figure 15 : Mesure de la circonférence de la patte



Patte avant l'injection



Patte après l'injection

Figure 14: La patte avant (a) et après l'injection de la carragénine (b)

6.5 Etude de la toxicité du venin des scorpions étudiés

6.5.1 Aires de répartition des espèces de scorpions du genre *Buthus* et comparaison de leur toxicité aiguë (DL_{50})

Tous les scorpions étudiés appartiennent à la famille des Buthidae, qui possède des capacités surprenantes de résistance à l'agression environnementale (Akbar *et al.*, 2021), comme la déshydratation, les infections microbiennes et les rayonnements ionisants (rayons gamma) (Elfiky *et al.*, 2019). La famille des Buthidae reste la plus importante en nombre d'espèces, et la plus connue d'un point de vue médical (Micaiah *et al.*, 2018 ; Gomez Rave *et al.*, 2019). La toxicité des venins de Buthidea est due à des toxines qui agissant essentiellement sur les canaux ioniques (Goyffon et Tournier, 2014 ; Kazemi *et al.*, 2019). Les espèces de scorpion étudiées *Buthus occitanus*, *Buthus paris*, *Buthus atlantis*, *Buthus lienhardi* et *Buthus mardochei* ont été collectées respectivement dans différentes régions du Maroc : la forêt de Ben El Abbadia, Igunane, Ain Kaicher, Ghazoua et Adrar (**Figure 17**). Ils étaient logés dans des cages bien ventilées avec accès *ad libitum* à la nourriture et à l'eau. L'identification des espèces a été faite selon une clé d'identification appropriée (Vachon, 1952; Lourenço, 2003).

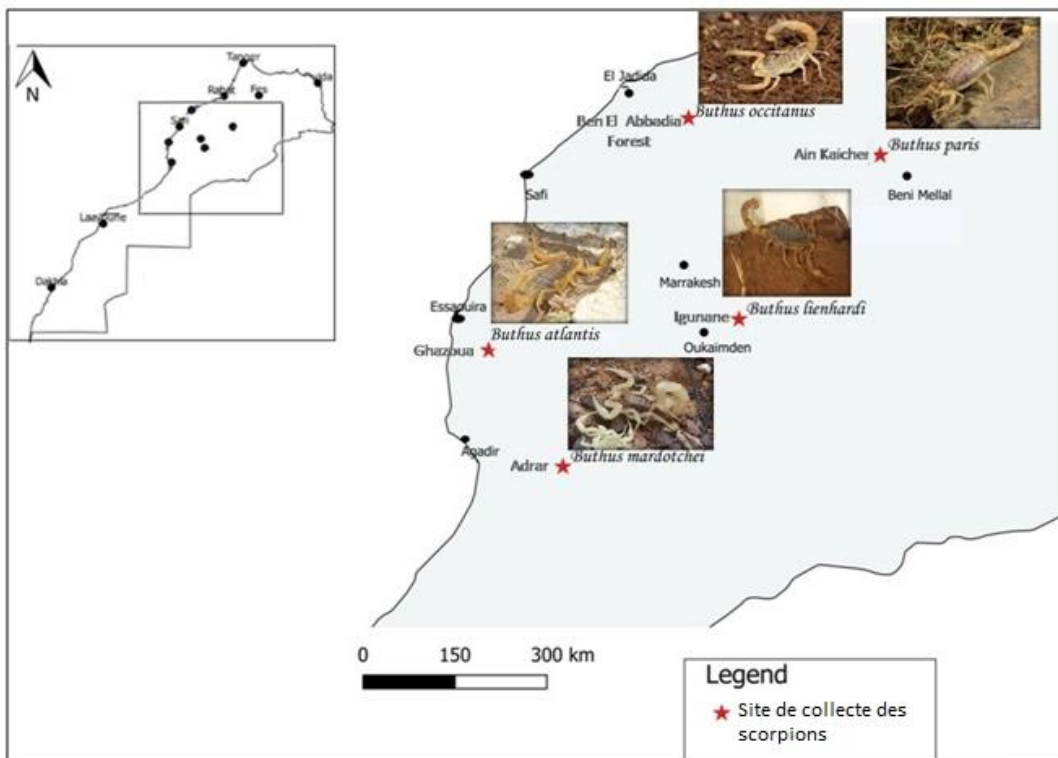


Figure 15: Répartition des sites de collecte des scorpions étudiés au Maroc

(Coordonnées GPS : Ain Kaicher : (32.731734,-6.584153) ; Igunane : (31.236062,-7.807972) ; Ghazoua : (31.444830, -9.740321) ; forêt de Ben El Abbadia : (32.968663,-8.485489) ; Adrar : (30.426312,-9.562464)).

6.5.2 Scorpions de notre étude

L'étude de la toxicité du venin est effectuée sur deux espèces de scorpions *Buthus occitanus* (Amoreux, 1789) (**Figure 18**) capturés dans la région d'Eljadida et *Buthus atlantis* (Pocock, 1889) (**Figure 19**) collectés dans la région d'Essaouira. Les scorpions ont été collectés en cherchant sous les pierres ou dans les terriers, où ils préfèrent se nicher, en les saisissant par la queue à l'aide de pince pour éviter de se piquer. La détermination morphologique des espèces a été effectuée par le professeur Oulaid TOULOUN en suivant la clé d'identification décrite par Lourenço (2003). Au Laboratoire les spécimens sont maintenus en vie dans des récipients individuels dans l'attente de l'opération d'extraction du venin.



Figure 17: Le scorpion *Buthus occitanus* de la région d'Eljadida



Figure 16: Le scorpion *Buthus atlantis* de la région d'Essaouira

6.6 Extraction du venin des scorpions

Les venins des espèces étudiées ont été obtenus à partir des scorpions matures des espèces citées par stimulation électrique du dernier anneau de la queue. Les scorpions ont été d'abord anesthésiés par inhalation d'un mélange d'air et d'éther de pétrole, puis le

cinquième anneau de la queue du scorpion est soumis à un courant électrique de 12V. Cette excitation provoque une contraction de la musculature des glandes à venin ce qui entraîne l'émission immédiate d'une goutte de venin recueillie dans un tube Ependorff (**Figure 20**), le venin obtenu est dilué avec de l'eau bidistillée puis centrifugé à 15 000 rpm pendant 15 min. Le surnageant contenant la fraction toxique du venin est recueilli et conservé au congélateur à 4°C pour une utilisation ultérieure.

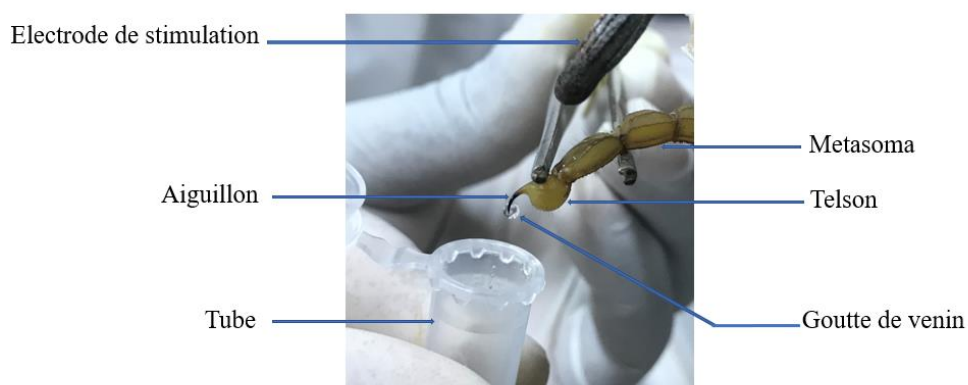


Figure 20 : Extraction du venin du scorpion par méthode électrique

6.6.1 Dosage des protéines du venin

Les concentrations de protéines sont déterminées avec précision selon la méthode de Bradford (1976), en utilisant comme réactif le bleu de Coomassie et comme protéine de référence l'albumine sérique bovine (BSA). La densité optique des protéines contenues dans le venin est ensuite mesurée à une longueur d'onde de 595 nm pour déterminer la teneur en protéines du surnageant des venins des scorpions en utilisant la courbe d'étalonnage standard. La solution pour chaque venin est préparée à une concentration finale de protéines de 5 mg/ml.

6.6.2 Détermination de la dose létale médiane(DL₅₀) du venin des scorpions étudiés

Un test préliminaire est réalisé dans le but de déterminer la gamme de réponses des souris envenimées comprise entre 0% et 100% de mortalité. Ensuite, un test définitif de la dose létale (DL₅₀) du venin en microgrammes de poids sec par souris est déterminé selon

les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 1981 ; Fathi *et al.*, 2022). Des lots de six souris sont utilisés, chaque groupe ayant reçu une injection sous-cutanée (0.1ml / souris) de doses croissantes de venin diluées dans 200 µl de solution physiologique saline. Après injection, les animaux sont mis en observation pendant 24 h. La durée de survie de chaque animal et le taux de mortalité sont enregistrés à la fin de l'expérience pour chaque groupe. La DL₅₀ est calculée et standardisée en appliquant la méthode d'analyse d'une probit à partir du tableau de Finney (1971) selon la formule suivante :

$$DL_{50} = \text{Antilog (Probit 5)}.$$

6.6.3 Détermination de la dose létale 99

La dose létale 99 (DL₉₉) est définie comme étant la quantité du venin injectée par voie sous-cutané entraînant la mort de 99% des animaux dans les 24 heures. Elle est utilisée dans les tests de neutralisation des venins, pour évaluer le pouvoir protecteur des extraits de plantes. Sa détermination est réalisée à partir de la courbe de la DL₅₀.

6.6.4 Observation des signes de toxicité

Durant le test de toxicité aiguë, les souris sont pesées et réparties en groupes de cinq souris dont un témoin. Les animaux qui ont reçu une injection unique par voie sous-cutanée du venin ou de l'eau physiologique. Elles sont ensuite remises dans leurs cages en leur fournissant de l'eau et de la nourriture. A 12, 24 et 48 heures après le traitement, nous avons compté le nombre de morts en fonction de la dose. Aussi, nous avons cherché s'il y a des signes de toxicité, à savoir les changements physiques ou comportementaux (hypersalivation, convulsions, faiblesse, hérissément du poil, toilettage excessif et tachycardie) (Mak *et al.*, 2019).

7 Étude *in vivo* de l'activité antivenimeuse des plantes étudiées

Afin de tester l'effet neutralisant des différentes doses des extraits des plantes contre le venin utilisé, la dose du venin est fixée à DL₉₉ /souris, alors que les doses des extraits sont variables selon le type du matériel végétal utilisé :

Extrait des parties aériennes de *L. serriola*: 0,5 g/kg –2 g/Kg

Extrait des feuilles de *T. garganica*: 1 g/kg – 2 g/kg

Extrait des racines de *T. garganica*: 0.1 g/kg – 0.5 g/kg

Un lot de 6 souris est utilisé pour chaque dose d'extrait. Le gavage des extraits (**Figure 21a**) se fait 5 min après injection sous cutanée de DL₉₉ du venin (**Figure 21b**), puis la durée de survie, durée entre l'injection et la mort de l'animal est enregistrée. La mortalité est par la suite évaluée pendant 24 h.

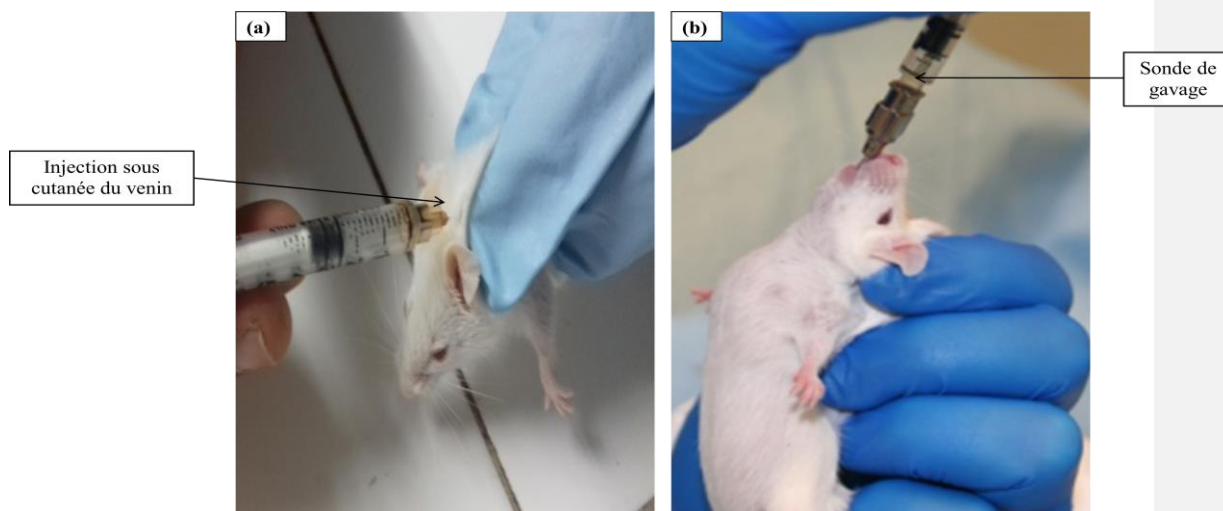


Figure 21: (a) Injection sous-cutanée du venin, (b) Technique du gavage des extraits

8 Étude histopathologique et biochimique

8.1 Analyse histologique

L'ensemble de l'étude histologique est effectué au service d'anatomie pathologique au Centre Hospitalier Universitaire Mohamed VI de Marrakech. Elle consiste à l'évaluation des dommages histologiques engendrés au niveau des organes (les poumons, le cœur, le foie et les reins) qui sont prélevés 3 h après l'injection sous cutanée du venin et l'administration orale des extraits des plantes étudiées. Les différents organes prélevés sont conservés pendant une nuit dans une solution de formol (10%).

a) Macroscopie

Après 24 h de fixation des organes prélevés dans une solution de formol (10%), les différents tissus sont placés dans des cassettes perforées en plastique dans le but de faciliter la circulation des différents liquides au cours des étapes d'imprégnation par la paraffine (**Figure 22**).



Figure 22: Cassettes de Macroscopie

b) Impregnation

Vu que le tissu reste trop malléable pour pouvoir réaliser des coupes de l'épaisseur désirée, il est nécessaire de le faire durcir en l'imprégnant dans la paraffine. Cette manipulation est réalisée grâce à un appareil automatisé appelé « Histokinette » (Leica) (**Figure 23**) pendant une durée de 17 h selon les étapes suivantes :



Figure 23: Histokinette d'imprégnation

- **La post-fixation** : Correspond à un bain de formol pendant 5 h qui permet ainsi le passage des fixateurs aqueux aux alcools.
- **La déshydratation** : Se fait par le passage des cassettes dans 5 bains d'éthanol de concentration croissante jusqu'à l'éthanol absolu (1 h pour chacun des 4 premiers et 2 h pour le dernier bain).
- **La substitution** : Consiste à remplacer l'éthanol qui n'est pas miscible à la paraffine par le toluène. Elle se fait par le passage des cassettes dans 3 bains successifs de toluène absolu (30min, 1 h, 2 h).
- **L'imprégnation** : Consiste à substituer le toluène par la paraffine dans 3 bains successifs de paraffine à 58 °C (30 min, 30 min, et 1h30min).

c) Inclusion

A cette étape, les pièces d'organes sont enrobées par la paraffine qui permet de fournir à la fois un support externe pendant et après la coupe. Ce déroulant en plusieurs étapes, Dans un premier temps, nous avons entreposé des moules adaptés à la taille du prélèvement dans une enceinte chauffée à 67 °C et nous y avons fait couler de la paraffine (**Figure 24**). Ensuite, pour figer cette dernière, les moules sont déposés sur un disque de refroidissement (- 14 °C) et les blocs de paraffines sont démoulés puis maintenus sur la plaque de refroidissement jusqu'à la microtomie.

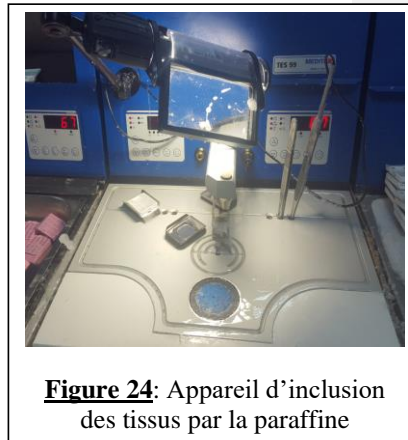


Figure 24: Appareil d'inclusion des tissus par la paraffine

d) Microtomie

Cette manipulation consiste à la réalisation des coupes grâce à un microtome (Leica RM2245) (**Figure 25**) qui nous permet d'obtenir des rubans très fins de l'ordre de 4 µm. Elles sont par la suite étalées sur des lames dégraissées (Starfrost®, Allemagne) puis placées dans l'étuve à 56°C pendant 20 minutes.

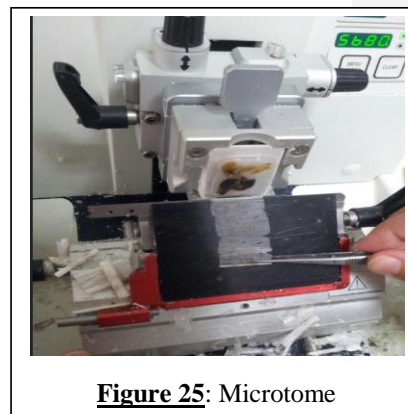


Figure 25: Microtome

e) Lecture des lames

Après la coloration à l'hématéine et à l'éosine selon les étapes décrites dans le tableau (**Tableau 6**), la lecture des lames est effectuée par observation au microscope optique et les images des différentes structures sont prises grâce à un dispositif de micro-imagerie numérique (Leica DMD108) (**Figure 26**).



Figure 26: Dispositif de micro-imagerie numérique

Tableau 6: Protocole de la coloration à l'hématéine et à l'éosine

Etapes	Temps	Rôle
Toluène (100%)	5 minutes × 3 bains	Déparaffinage
Ethanol absolu	5 minutes	Réhydratation
Ethanol 90	5 minutes	
Ethanol 80	5 minutes	
Ethanol 70	5 minutes	
Eau de robinet	Quelques secondes	Rinçage
Hématéine	5 minutes	Coloration des noyaux en bleu violacé
Eau de robinet	Quelques secondes	Rinçage (enlever l'excès de colorant)
Eau acidifiée	Quelques secondes	Différenciation (bleuir les noyaux et faciliter la fixation du colorant)
Eau lithinée	Quelques secondes	
Eosine	5 minutes	Coloration du cytoplasme et en rose
Eau de robinet	Quelques secondes	Rinçage (enlever l'excès de colorant)
Ethanol 50	30 secondes	Déshydratation
Ethanol 70	30 secondes	
Ethanol absolu	30 secondes	
Toluène	Quelques secondes	Nettoyage de la lame

8.2 Analyse biochimique

8.2.1 Prélèvement du sang

Avant le prélèvement sanguin, les animaux ont été anesthésiés par injection intrapéritonéale par l'hydrate de chloral (6% IP) puis sacrifiés. Des échantillons de sang ont été prélevés à partir de la veine jugulaire de chaque animal, dans des tubes secs immergés dans un bac à glace. Le prélèvement est réalisé ensuite 3 h après l'injection du venin au groupe

envenimé et l'administration du venin puis de l'extrait des plantes chez le groupe traité ou d'une solution de NaCl à 0,9% chez le groupe témoin.

8.2.2 Dosages des paramètres biochimiques sériques

Les dosages des paramètres biochimiques ont été réalisés au niveau du laboratoire de Biochimie médicale du Centre Hospitalo-Universitaire Mohamed VI de Marrakech. Il s'agit d'une étude ayant pour but de quantifier certains paramètres biochimiques sur le sérum obtenu à partir de la centrifugation des échantillons de sang prélevé des souris qui ont été divisés en 3 groupes (un groupe témoin, groupe injecté par le venin seul, groupe injecté par le venin et traité par les extraits méthanoliques des plantes étudiés). Le sang est recueilli dans des tubes Eppendorf sec de 2 ml, puis centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 min. Les dosages sont effectués conformément aux protocoles fournis avec les kits commerciaux Roche Diagnostics GmbH Sandhofer Str.116 (Germany) appliqués sur l'Analyseur de biochimie automatique ROCHE Cobas C501 series (US-FDA) (**Tableau 7**).

Les enzymes recherchés par dosage sont :

➤ **La Créatine PhosphoKinase (CPK)**

C'est une enzyme qui apporte de l'énergie dans les différents tissus. Les tissus les plus riches en CPK sont les muscles striés, le cœur et le cerveau. Une élévation du taux des CPK s'observe dans des affections cardiaques et/ou musculaires. La CPK ayant une localisation intracellulaire, sa présence dans la circulation sanguine est un signe des lésions cellulaires.

➤ **Les transaminases hépatiques**

La fonctionnalité du foie peut être mesurée par les transaminases (ASAT- ALAT) dont le rôle est de transférer un groupe amine lors de nombreux processus chimiques se déroulant au niveau hépatique.

- **L'alanine Amino - transférase (ALAT)**

Enzyme présente essentiellement dans le foie. Son dosage peut être très utile au diagnostic de certaines affections (foie, rein, coeur, et rate). L'altération du foie augmente le taux de l'ALAT qui témoigne donc une lésion hépatique.

- **L'aspartate aminotransférase (ASAT)**

Marqueur sensible lors de dommage des tissus mous, notamment le foie ou le muscle. Une augmentation de l'activité sérique de l'ASAT due à une lésion, réversible ou non, des hépatocytes ou des myocytes. Pour faire la distinction, l'interprétation de l'activité sérique de l'ASAT est combinée toujours à celle de l'activité sérique de la CK.

- **Lactate déshydrogénase (LDH)**

Est une enzyme qui catalyse la conversion du pyruvate en lactate. Une augmentation importante du taux du lactate déshydrogénase (LDH) est le signe d'une souffrance cellulaire généralement au niveau du cœur ou des poumons. Cependant, son dosage est couramment associé à d'autres évaluations pour faire un diagnostic.

- **La créatinine**

La créatinine est filtrée à travers le glomérule. Une augmentation de la créatininémie est le signe d'une atteinte rénale glomérulaire. Plus rarement elle s'interprète comme une lyse massive de myocytes.

- **L'urée**

L'augmentation de l'urée plasmatique peut provenir d'une augmentation du catabolisme protéique ou d'une diminution de l'excrétion urinaire. C'est donc potentiellement un indicateur d'atteinte rénale. L'interprétation de l'urémie ne se fait donc pas seule, mais combinée à celle de la créatininémie.

Tableau 7: Procédés de dosage des marqueurs biochimiques

Paramètre	Système Analyseur	Principe de la méthode	Référence de la méthode
ASAT	Analyseur de biochimie automatique ROCHE Cobas C501 series (US-FDA)	Méthode IFCC sans phosphate de pyridoxal	20764957322
ALAT		Méthode IFCC sans phosphate de pyridoxal	20764957322
CPK		Méthode UV	07190794190
LDH		Méthode IFCC	05169330190
Créatinine		Méthode Jaffé compensée	06407137190
Urée		Méthode UV	04460715190

l'IFCC: International Federation of Clinical Chemistry

9 Analyses statistiques

Les différentes expériences réalisées pendant ces travaux de recherche sont toutes répétées au moins trois fois pour évaluer la répétabilité des procédures. A partir de ces mesures, le traitement statistique des différentes variables est réalisé par le test ANOVA one way suivis par le test Tukey à l'aide du logiciel SigmaPlot 12,5. Le test statistique est considéré comme significatif pour une valeur de $P < 0,05$. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm erreur standard à la moyenne (S.E.M). Les différences significatives entre les conditions sont ensuite évaluées en effectuant une comparaison multiple de moyennes via une ANOVA, à différents intervalles de confiance : 95, 99 et 99.9 %. Les différences avec des *p-values* supérieures à 0.05, 0.01 ou 0.001 n'ont pas été considérés comme significatives. Par ailleurs, ce logiciel est également utilisé pour effectuer les tests statistiques multivariés.

Chapitre III : Résultats et discussion

1 Enquête ethnobotanique sur le traitement à base de plantes des envenimations scorpioniques

1.1 Inventaire et propriétés des plantes étudiées

Les informations sur les utilisations des plantes contre l'envenimation scorpionique ont été collectées à l'aide d'un questionnaire structuré à travers des conversations avec les patients piqués et les guérisseurs ayant accepté de partager avec nous leur savoir concernant les parties utilisées des plantes, leur mode de préparation, mode d'administration et les propriétés pharmacologiques.

A partir de cette enquête, la liste des plantes médicinales obtenue compte 22 espèces appartenant à 14 familles (**Tableau 8**).

Tableau 8: Inventaire des plantes utilisées dans le traitement de l'envenimation scorpionique dans les régions étudiées

Nom scientifique	Nom français	Nom arabe	Nom amazigh	Famille	Partie utilisée	Mode de préparation	Mode d'administration	Propriétés pharmacologiques	Références Bibliographiques
<i>Allium cepa</i>	Oignon	Basla	Azalim	Liliaceae	Bulbe	Cataplasme	Local	Antioxydant	Ola-Mudathir et Maduagwu, 2014

<i>Allium sativum</i>	Ail	Toma	Tiskirt	Liliaceae	Fruit	Cru	Orale	Antidote	Mahyar Dorrigiv <i>et al.</i> , 2020
<i>Aquilaria malaccensis</i>	Epine vinette	Hood	Akila	Thymelaeaceae	Partie aérienne	Décoction	Orale	Antioxydant ; anti-inflammatoire	Hendra <i>et al.</i> , 2016; Manar <i>et al.</i> , 2018
<i>Arctium Lappa</i>	Grande Bardane	Kertabe	Arktos	Asteraceae	Racine	Cataplasme	Local	Antivenin	Lieutaghi, 1996
<i>Aristolochia longa</i>	Aristolochia	Bereztum	Gitsa	Aristolochiaceae	Plante entière	Cataplasme	Local	Antioxydant, Antibacterien, Antifungal, Anti Inflammatoire	Merouani <i>et al.</i> , 2017
<i>Artemisia absinthium</i>	Absinthe	Chiba	Tachibt	Asteraceae	Partie aérienne	Cru - cataplasme	Local- orale	Antioxydant	Msaada <i>et al.</i> , 2015
<i>Artemisia herba alba</i>	Armoise blanche	Chiḥ	Izerg	Asteraceae	Feuille	Cataplasme	Local	Anti-inflammatoire	Ferchichi, 2004
<i>Citrullus</i>	Coloquinte	Lehdeja	Taferzizt	Cucurbitaceae	Fruit	Cru	Local	Antidote	Razi, 2000

<i>colocynthis</i>									
<i>Euphorbia resinifera</i>	Euphorbe	Daghmouss	Tikiwt	Euphorbiaceae	Partie aérienne	Cru	Local	Anti-microbienne, antioxydant	Farah, 2014
<i>Hammada scoparia</i>	Saligne à balai	Rremt	Tassay	Amaranthaceae	Fruit	Cru	Local	Antivenin	Bellakhdar ,1997
<i>Malus domestica</i>	Pommier	Chadjaretteffah	Tatefa	Rosaceae	Feuille	Décoction	Orale	Anti-inflammatoire	Ducerf ,2009
<i>Marrubium vulgare</i>	Marrube blanc	Merrîwut	Lfzi	Lamiaceae	Feuille	Décoction	Orale	Anti-inflammatoire Antioxydant	Minker, 2013;Ghedadba <i>et al.</i> , 2014
<i>Mentha spicata</i>	Menthe verte	Nâanâa sonboli	Talikamt	Lamiaceae	Plante entière	Décoction	Orale	Antispasmodiques et antinociceptives	Souza, 2013 ; Gonçalves, 2008
<i>Pistacia lentiscus</i>	Pistachier lentisque	Habbet el Khaddra	Lbetma	Anacardiaceae	Feuille	Décoction	Orale	Antibactérien	Bammou <i>et al.</i> , 2015
<i>Plantago major</i>	Grand plantain	Lissanhamla	Agoucinebour'ioul	Plantaginaceae	Partie aérienne	Décoction	Orale	Antioxydante; Anti-inflammatoire, cicatrisant	Mulot, 2015. Saffidine, 2018

<i>Teucrium polium</i>	Germandrée	Jaàda	Techmezzutin	Lamiaceae	Feuille	Cataplasme	Locale- orale	Anti-inflammatoire Antibactérienne et antioxydante	Tariqet <i>et al.</i> , 1989; Ounis <i>et al.</i> , 2018
<i>Thymus Zygis</i>	Thym	Zitra	Tazuknite	Lamiaceae	Partie aérienne	Décoction	Orale	Antioxydante, antimicrobienne	Amarti <i>et al.</i> , 2011
<i>Verbena officinalis</i>	Verveine officinale	Ben nout	Tabaymoute	Verbenaceae	Feuille	Décoction	Orale	Antioxydante	Rosendal <i>et al.</i> , 1989
<i>Lactuca Serriola</i>	Laitue sauvage	Achbat sem	Assafar nsem	Asteraceae	Partie aérienne	Décoction	Orale	Antivenin	Bouimeja <i>et al.</i> , 2019
<i>Thapsia Garganica</i>	Père de la santé	Bounaf3	Adryas	Apiacées	Feuille	Décoction	Orale	Antivenin	Bouimeja <i>et al.</i> , 2018
<i>Mentha Vidiris</i>	Menthe	Naânaâ akhdar	Liquamt	Lamiaceae	Plante entière	Décoction	Orale	Antioxydante et anti- inflammatoire	Souza <i>et al.</i> , 2013
<i>Olea oleaster</i>	Olivier sauvage	Jbouj	Tazemmourt	Oleaceae	Plante entière	Décoction	Orale	Anti-inflammatoire	Marcheselli <i>et al.</i> , 2003

La plupart des personnes piquées enquêtées (57.2%) ont eu recours à des moyens traditionnels pour se soigner contre les envenimations scorpioniques, pour diverses raisons telles que l'inaccessibilité aux structures sanitaires (51.2%), l'absence de la confiance à la médecine moderne (13.45%), ou bien dans l'attente de l'arrivée à la structure sanitaire la plus proche (32.2%). Le traitement traditionnel utilisé contient plusieurs méthodes tel que la scarification (5%), la pose du garrot (20%) avec un cas d'ischémie du membre supérieur, l'application du gaz de butane à froid (10%), la cryothérapie (4%), la succion (12%), l'application de la Pierre noire (1%) et en majorité les plantes médicinales (48%) (**Figure 27**). En effet, face à ces piqûres et surtout dans les régions enclavées, les populations locales ont recours à la phytothérapie par l'utilisation des plantes médicinales (Touloun *et al.*, 2012). En outre, les résultats de l'enquête que nous avons menée reflètent d'une façon très claire la grande richesse en plantes médicinales de la région d'étude. La manière d'usage de ces différentes plantes varie d'une personne à l'autre selon les parties utilisées de la plante, la quantité utilisée, leur état, les différents modes de préparation, les différentes formes d'emploi, et les différents modes d'administration.

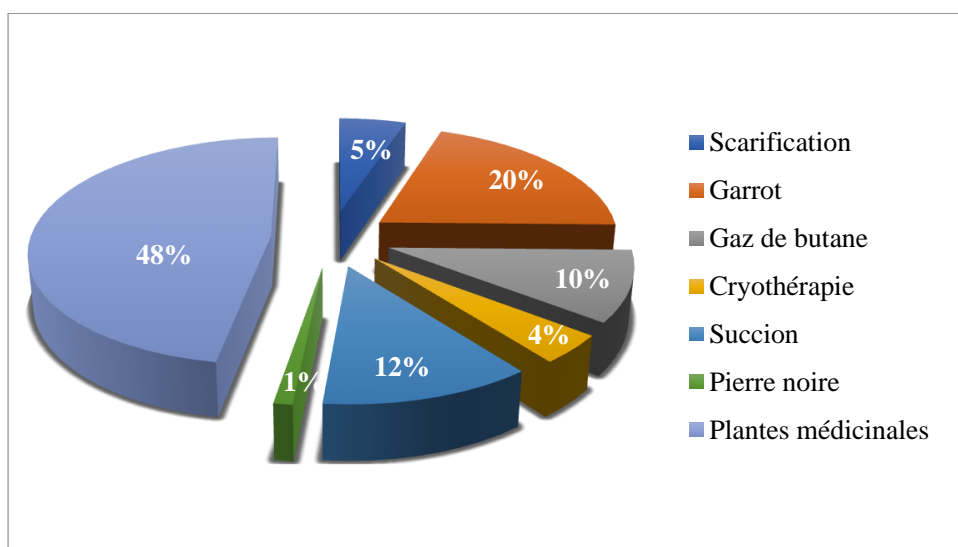


Figure 27 : Type de traitement traditionnel utilisé auprès des enquêtés de notre étude

On note que les différentes parties des plantes sont utilisées, les organes de la partie aérienne (feuille, graine isolée, fruit), les organes de la partie souterraine (racine entière, bulbe) sont employés dans une moindre mesure, la plante entière est exploitée dans le cas des herbacées annuelles. Les feuilles et la partie aérienne entière sont les principaux organes utilisés avec les fréquences les plus élevées (32.43% ; 35.1%) par rapport aux autres organes. Ces résultats sont confirmés par plusieurs études dont ceux de Kunjam *et al.* (2013) ; Sharafatmandrad et Khosravi Mashizi, (2020). En effet, les feuilles sont les principaux organes photosynthétiques de la plante et donc plus actifs pharmacologiquement par rapport aux autres parties (Tugume et Nyakoojo, 2019; Li *et al.*, 2020; Hu *et al.*, 2022). Afin de faciliter l'administration du principe actif, plusieurs modes de préparations sont employés à savoir la décoction, l'infusion, le cataplasme et cru. Les formes les plus fréquemment utilisées sont la décoction (54.8%) et le cataplasme (27.3%), ce qui est en accord avec l'étude d'Ammor *et al.* (2020) effectuée à Fés.

1.2 Répartition des plantes utilisées selon leurs fréquences d'utilisation

Parmi les plantes inventoriées, deux sont fréquemment utilisées par les populations locales des régions étudiées à savoir *Lactuca serriola* (33%) et *Thapsia garganica* (24%) (Figure 28).

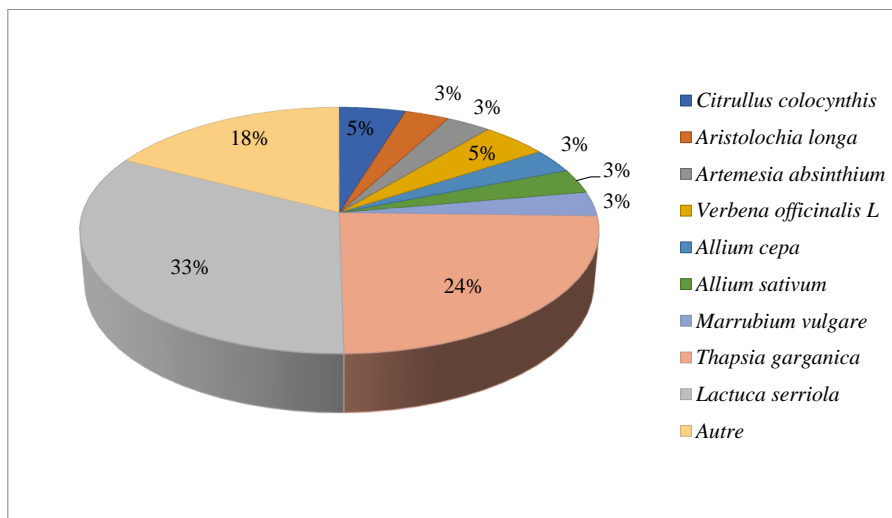


Figure 18: Fréquence d'utilisation des plantes contre les envenimations scorpioniques auprès des enquêtées

Au Maroc, plusieurs plantes sont couramment utilisées pour traiter les envenimations scorpioniques (Bellakhdar, 2006 ; Rhafouri *et al.*, 2014 ; Bouimeja *et al.*, 2018 ; Bouimeja *et al.*, 2019 ; Telli *et al.*, 2022; Emam et Al-Otobi, 2022).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Butt *et al.* (2015), qui ont souligné que les Lamiaceae et les Asteraceae sont parmi les familles de plantes les plus utilisées contre les envenimations au Nord du Pakistan, et que les plantes *Lactuca serriola* et *Thapsia garganica* fréquemment utilisées par la population de notre étude sont documentées par d'autres auteurs dans les régions Sahariennes du nord algérien et de sud marocain pour traiter la piqûre de scorpion (Maiza *et al.*, 1993 ; Adaika *et al.*, 2021; Emam et Al-Otobi, 2022).

2 Étude phytochimique des plantes étudiées

2.1 Rendements des extraits des plantes étudiées

La préparation des extraits a été effectuée par soxhlet en utilisant le méthanol comme solvant.

Le **tableau 9** représente les rendements correspondant aux extraits des deux plantes étudiées exprimés en pourcentage de la masse de l'extrait obtenu par rapport au poids de la matière sèche de la plante utilisée.

Tableau 9: Rendements des extraits des plantes étudiées

Matériel végétal	Poids sec (g)	Rendement (%)
Feuilles de <i>Thapsia garganica</i>	100	16.13
Racines de <i>Thapsia garganica</i>	100	3
Parties aériennes de <i>Lactuca serriola</i>	100	14.27

Les taux de rendement obtenus par le méthanol dans cette étude confirment bien le pouvoir de ce dernier d'extraire le maximum des principes actifs contenus dans nos plantes. Selon Ozturk *et al.* (2018), l'extraction maximale des composés phénoliques est basée essentiellement sur la méthode d'extraction et le solvant choisi.

Le taux d'extraction augmente en fonction de la polarité du solvant, ainsi la température, la nature et le volume du solvant peuvent affecter le rendement des composés phénoliques du matériel végétal (Jahromi, 2019 ; Drevelegka et Goula, 2020 ; Alara *et al.*, 2021). D'ailleurs, le méthanol est un solvant de haute polarité puisqu'il est capable d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires et de faciliter l'extraction d'un grand nombre de composés polaires ainsi que des composés de moyenne et de faible polarité (Grossmann *et al.*, 2018; Xiao *et al.*, 2021). Selon Terblanche *et al.* (2017) et Imane, (2020) une meilleure récupération de polyphénols et de flavonoïdes est obtenue avec le méthanol.

Par ailleurs les résultats de Hamdy *et al.* (2013), qui ont travaillé sur différents solvants d'extraction du thym, de la sauge et de la marjolaine, ont trouvé que le méthanol présentait le plus important rendement par rapport aux autres solvants et une capacité d'extraction très élevée. Ces résultats sont similaires avec ceux rapportés par notre étude surtout pour les extraits méthanoliques des feuilles de *T. garganica* et des parties aériennes de *L. serriola*. Nos résultats corroborent également ceux de l'étude de Zahaf, (2019) qui a trouvé que le rendement de l'extrait méthanolique de *T. garganica* est de l'ordre de 15.49%.

2.2 Screening phytochimique

L'analyse phytochimique utilisée a pour but d'identifier les groupes de constituants chimiques contenus dans nos extraits méthanoliques présentant un intérêt pharmacologique. Nous remarquons la présence des flavonoïdes, des tannins, des saponines, des coumarines, des terpènes et des stérols dans tous les extraits étudiés. Cependant, les alcaloïdes ne sont présents que dans l'extrait des parties aériennes de *L. serriola*. Ces résultats, confirment la richesse des extraits étudiés par la majorité des métabolites secondaires (**Tableau 10**).

Tableau 10: Résultats du test phytochimique des extraits méthanoliques du matériel végétal étudié

Métabolite secondaire	Test phytochimique	Feuilles de <i>T. garganica</i>	Racines de <i>T. garganica</i>	Parties aériennes de <i>L. serriola</i>
Saponines	Test de mousse	++	++	+++
Tanins (Galliques ou Cathéchiques)	Test de trichlorure ferrique (Fe Cl ₃)	+	+++	+
Flavonoïdes	Test à la cyanidine	+++	+	++
Coumarines	Test de NH ₄ OH	+++	++	+++
Alcaloïdes	Test de Dragendorff	-	-	+++
Terpènes et stérols	Test de Liebermann	+++	+++	+++
Quinones	Test de Borntrager	+++	+++	-
Anthocyanes	Test de l'Ammoniac	+++	++	-

NB: Fortement positifs (+++), Moyennement positifs (++) , Faiblement positifs (-), non détectés (-).

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique des feuilles et racines de *T. garganica* et des parties aériennes de *L. serriola*, a permis de mettre en évidence la présence de quelques familles chimiques qui possèdent des activités biologiques intéressantes. Notamment les flavonoïdes, qui sont souvent utilisés comme anti-inflammatoires, antiallergiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques, hypocholestérolémians, diurétiques, antibactériens et antiviraux *in vitro* (Górniak *et al.*, 2019 ; Fernández *et al.*, 2021), et comme des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de l'aldose réductase, de la phospholipase et de certaines enzymes de l'inflammation à savoir la cyclooxygénase et la lipo-oxygénase (Zeng *et al.*, 2018).

Les tanins qui possèdent un effet vasoconstricteur, un effet antiseptique et antibactérien (Adamczak *et al.*, 2019), ainsi qu'un effet antioxydant (Shi *et al.*, 2019). La présence des tanins suggère la capacité de ces plantes à jouer un rôle majeur comme agent anti-diarrhéique et antihémorragique (Raji *et al.*, 2019). Les saponines et les saponosides sont habituellement hémolytiques et assurent la défense des plantes contre l'attaque microbienne ou fongique, et parfois sont actives *in vitro* sur des virus (Sonfack *et al.*, 2021). Les coumarines sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de neutraliser les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Al-Majedy *et al.*, 2019). Ils ont aussi une action anti-inflammatoire (Zwirschmayr *et al.*, 2019). Les alcaloïdes possèdent des effets pharmacologiques, analgésiques, antispasmodiques, détoxifiants et antihypertenseurs (Salleh *et al.*, 2019). De même, les résultats du criblage phytochimique de la plante *T. garganica* reporté par Zahaf, (2019) a révélé la présence des saponosides, des tanins et des flavonoïdes. D'après ces résultats, on peut supposer qu'avec la richesse phytochimique, les plantes de notre étude pourrait avoir un effet protecteur contre l'envenimation scorpionique à travers ces propriétés pharmacologiques des polyphénols, des flavonoïdes et des tannins.

2.3 Étude phytochimique quantitative

2.3.1 Dosage des polyphénols totaux

Les composés phénoliques se caractérisent par une grande diversité structurale permettant d'avoir une grande variabilité des caractères physico-chimiques et une multitude de méthodes d'extraction (Vuolo *et al.*, 2019 ; Dzah *et al.*, 2020). Dans la présente étude, les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g de matière

sèche (mg EAG/g MS) en utilisant la courbe d'étalonnage relative à l'acide gallique : $Y = 8.4884 X + 0.0525$ (Figure 29).

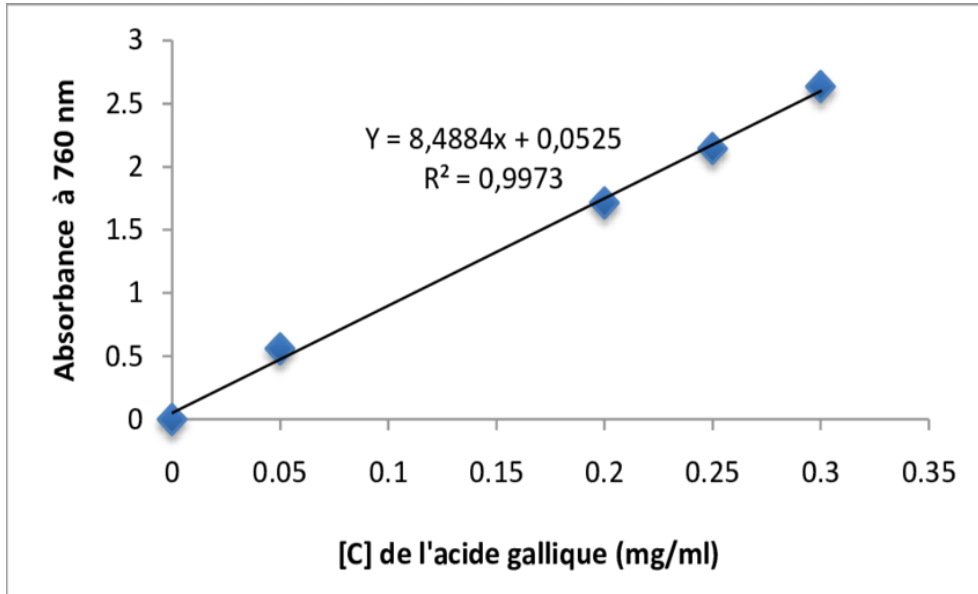


Figure 19: Courbe de la gamme étalon de l'acide gallique

La teneur de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *L. serriola* en composés phénoliques est de l'ordre de 31.816 ± 3.52 mg EAG/g MS. Cette dernière est supérieure ($P < 0,001$) comparativement aux teneurs phénoliques des feuilles et des racines de *T. garganica*, qui sont respectivement de l'ordre de 29.23 ± 0.15 mg EAG/g ES, et 18.941 ± 0.08 mg EAG/g ES (Figure 30).

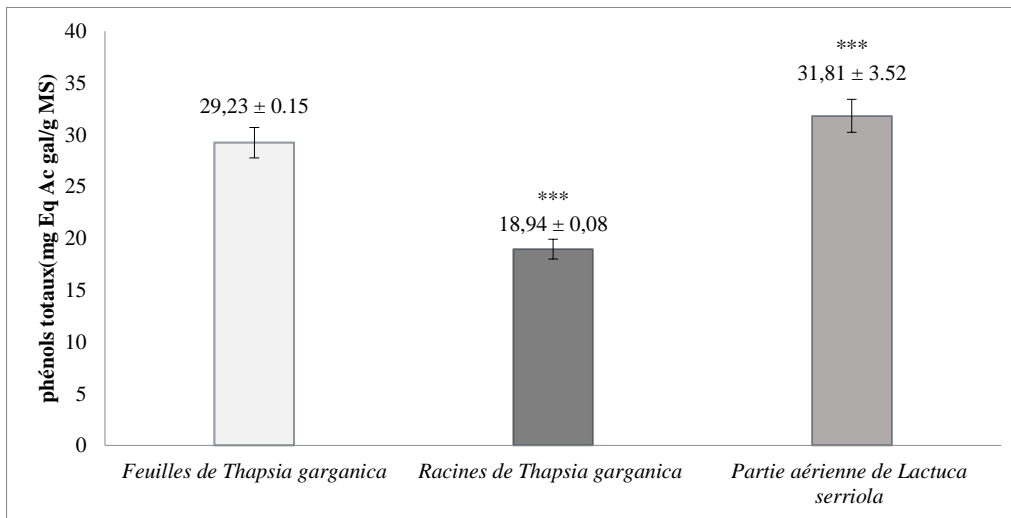


Figure 30 : Teneurs en polyphénols (mg EAG/g MS) totaux des plantes étudiées. Les résultats sont exprimés en tant que moyenne \pm ET d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon (les moyennes sont significativement différentes *** $P < 0.001$).

Les résultats du dosage des polyphénols totaux des feuilles et des racines de *T. garganica* dans notre étude sont en désaccord avec ceux de Djahida et Houcine, (2021) qui ont enregistré des teneurs élevées en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique des racines de *T. garganica* par rapport à celles de ses feuilles, cette différence est probablement due aux conditions d'extraction en termes de température et nombre de cycle d'extraction (Sumere *et al.*, 2018 ; Avanza *et al.*, 2021). Elle pourrait aussi être liée au temps d'extraction, à l'origine géographique, à la saison de collecte (Saldarriaga-Hernandez *et al.*, 2021 ; Kabbash *et al.*, 2021) et à un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (environnement et stockage) (Padilla-González *et al.*, 2022). Nos résultats en teneur des polyphénols des feuilles de *T. garganica* (29.23 \pm 0.15 mg EAG/g ES) sont cohérents avec les travaux d'Alghazeer *et al.* (2012) qui ont travaillé sur le même extrait méthanolique (28.53 \pm 3.82 mg EAG/g ES). Concernant la deuxième plante *L. serriola* nous remarquons qu'elle est la plus riche en polyphénols totaux avec une concentration de l'ordre de 31.816 \pm 3.52 mg EAG/g ES. Cette richesse est confirmée par le résultat des autres études qui ont travaillé sur la même plante collectée de différentes régions du monde (Arabie saoudite, Iran...), qui prouvent que la teneur

phénolique est très importante dans l'extrait méthanolique de *L. serriola* (Sahreen *et al.*, 2011; Esmaeili *et al.*, 2015; Nayeem et Imran, 2018).

2.3.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Les résultats obtenus après le dosage des flavonoïdes totaux sont exprimés en mg équivalent de catéchine par g d'extrait sec (mg EC/g ES) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine : $Y = 42.15 X + 1.620$ (Figure 31).

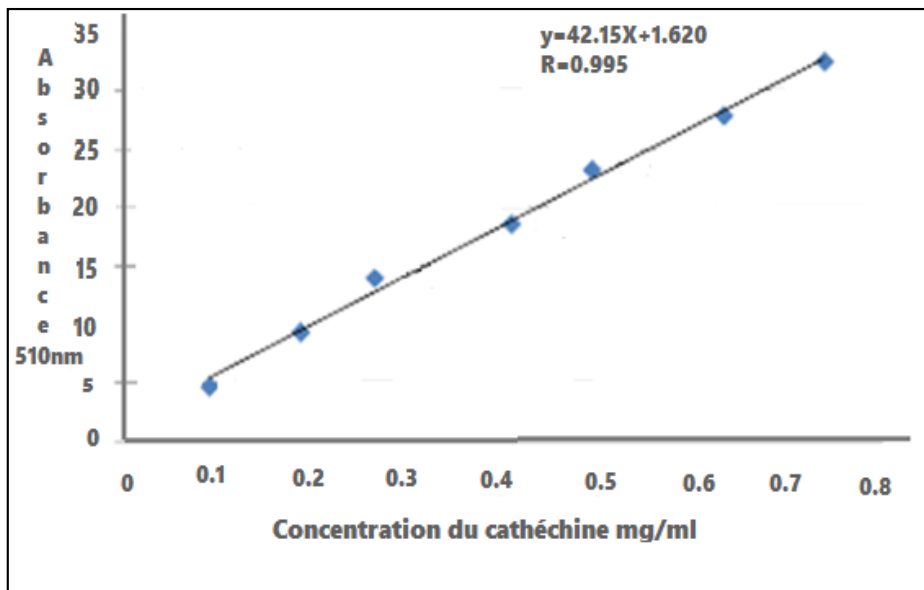


Figure 31: Courbe de la gamme étalon de la catéchine

Les résultats obtenus par le dosage des flavonoïdes pour les trois extraits (feuilles de *T. garganica*, racine de *T. garganica* et parties aériennes de *L. serriola*) sont représentés dans la figure 32. Nous avons obtenu une valeur de 24.31 ± 0.56 mg EC/g ES, pour l'extrait des feuilles de *T. garganica*, et 9.16 ± 0.16 mg EC/g ES, et 4.32 ± 0.04 mg EC/g ES respectivement pour l'extrait des racines de *T. garganica* et les parties aériennes de *L. serriola*.

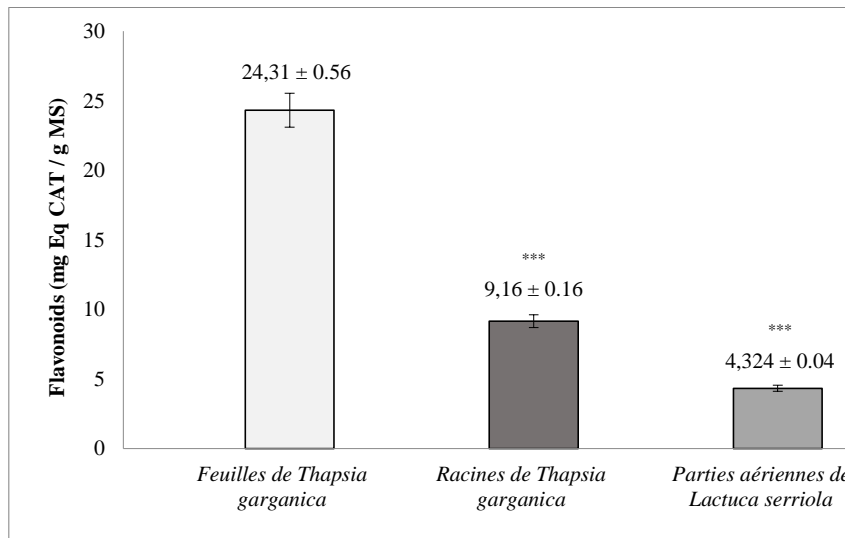


Figure 32 : Teneur en flavonoïdes totaux des plantes étudiées. Les résultats sont exprimés en tant que moyenne \pm ET d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon (Les moyennes sont significativement différentes *** $P < 0.001$)

Dans la présente étude, la teneur la plus élevée en flavonoïdes est obtenue pour l'extrait méthanolique des feuilles de *T. garganica*, ce qui est similaire à celle rapportée par Rached *et al.* (2010), qui ont trouvés dans le même extrait d'origine algérien une quantité phénolique largement supérieure ($47,13 \pm 0,94 \mu\text{g Eq de Quer /g MS}$) par rapport aux autres extrais étudiés. Alors que Djeridane *et al.* (2006) ont obtenu des teneurs en flavonoïdes chez *T. garganica* du Sahara algérien de l'ordre de $4,04 \pm 0,42 \text{ mg Eq. Quer/g ES}$, ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus dans notre étude. De ce fait, cette différence peut être expliquée par la variation de plusieurs facteurs à savoir : la région de récolte, la méthode du dosage, la méthode d'extraction (Arbab *et al.*, 2020; Benseddik, 2021), également la méthode de conservation des plantes qui peut influencer la teneur en flavonoïdes (Zhang *et al.*, 2019). Par comparaison aux autres études réalisées sur *T. garganica*, la diversité structurale des flavonoïdes affecte aussi leur quantification, à cause de leur capacité de se solubiliser dans les différents solvants d'extraction (Ohikhena *et al.*, 2018).

Nayeem et Imran, (2018), ont souligné que la teneur en flavonoïdes était plus importante dans l'extrait méthanolique des parties aériennes de *L. serriola* ce qui est similaire à notre étude et aux autres travaux antérieurs (Esmaeili *et al.*, 2015). D'après les recherches de Nayeem et Imrane,

2018, il s'est avéré que la quantité de flavonoïdes qui se trouve dans l'extrait méhanolique de *L. serriola* est très importante et qu'elle est de l'ordre de 490 µgm.

De même, selon Oughir, (2018) l'évaluation de la teneur en flavonoïdes a permis de conclure que l'extrait de *L. serriola* contient une quantité importante de flavonoïde qui est de l'ordre de $4,20 \pm 0,10$ mg ECA/g ES ce qui est en accord avec nos résultats.

2.3.3 Dosage des tannins condensés

Les résultats obtenus pour le dosage des tannins condensés sont exprimés en mg équivalent de catéchine par g d'extrait sec en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine (**Figure 33**).

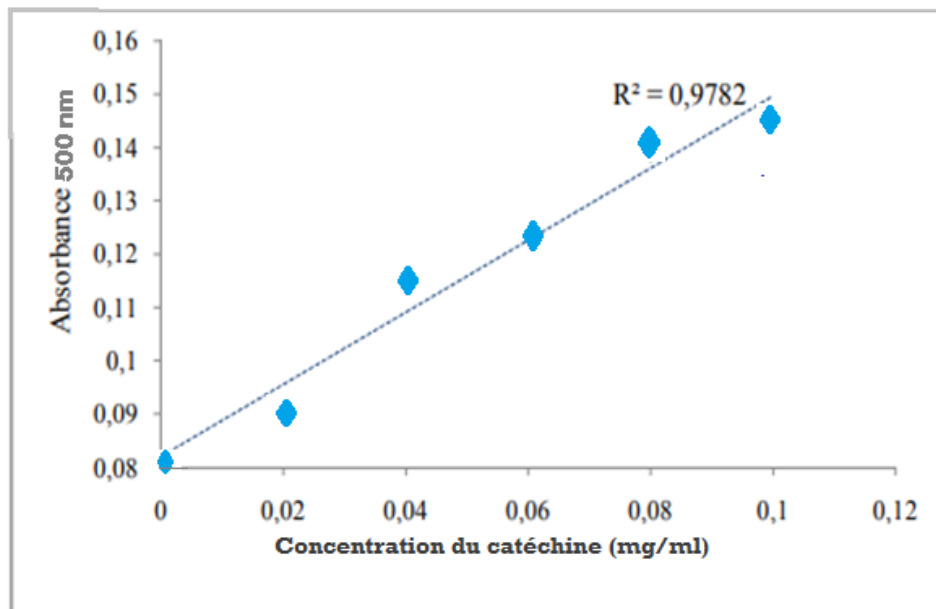


Figure 33: Courbe de la gamme étalon de la catéchine

Les résultats du dosage des tanins pour les trois extraits (feuilles et racines de *T. garganica*, parties aériennes de *L. serriola*) sont représentés dans la **figure 34**. L'extrait des feuilles de *T. garganica* contient un taux de tanins plus élevé que les autres extraits (16.91 mg EC/g ES). Nous avons noté aussi un taux de l'ordre de 11.259 mg EC/g ES dans l'extrait des

parties aériennes de *L. serriola* et un taux de l'ordre de 3.182 mg EC/g MS dans l'extrait des racines de *T. garganica*.

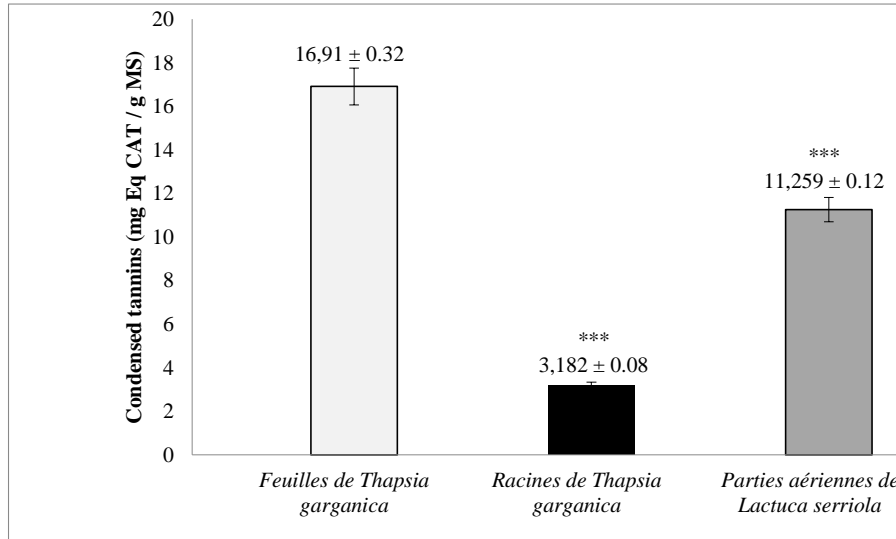


Figure 34: Teneur en tannins condensés des trois extraits. Les résultats sont exprimés en tant que moyenne \pm ET d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon

Les résultats de notre étude montrent que l'extrait des feuilles contient un taux plus élevé en tanins que l'extrait des racines de *T. garganica*. Ces résultats sont en accord avec le travail de Djahida et Houcine, (2021) qui ont montré que les tannins condensés constituent le groupe majoritaire des composés phénoliques totaux analysés respectivement dans les racines, les feuilles et les fleurs de *T. garganica*.

Plusieurs études ont montré que les plantes *T. garganica* et *L. serriola*, sont considérées comme une source importante de composés phénoliques (Nayeem et Imran, 2018 ; Benseddik, 2021).

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans notre étude qui confirme la richesse des extraits par la majorité des métabolites secondaires. Par ailleurs, l'effet protecteur des plantes contre le venin pourrait être lié à la présence de ces composés phénoliques expliqué par plusieurs mécanismes dont l'adsorption à la membrane cellulaire, l'interaction avec les enzymes, la privation des substances et des ions métalliques (Corrêa *et al.*, 2019 ; Amraoui *et al.*, 2020 ; Emam et Al-Otabi, 2022).

3 Analyses chromatographiques

3.1 Analyse des composés phénoliques de l'extrait méthanolique des feuilles de *T.garganica* par la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

Le profil chromatographique de l'extrait méthanolique des feuilles de *T.garganica* analysé représenté dans la **figure 35**, montre des composés mentionnés par leurs pics et leurs temps de rétention dans le spectre comme suit : l'acide gallique (0.15 mg/g), l'acide caffeique (0.14 mg/g), l'acide *p*-coumarique (0.14 mg/g), l'acide tannique (0.18 mg/g), l'acide sorbique (0.19 mg/g), l'acide ferrique (0.19 mg/g). Tandis que, le thapsigargine (0.73 mg/g) est le produit le plus majoritaire dans l'extrait des feuilles (**Tableau 11**).

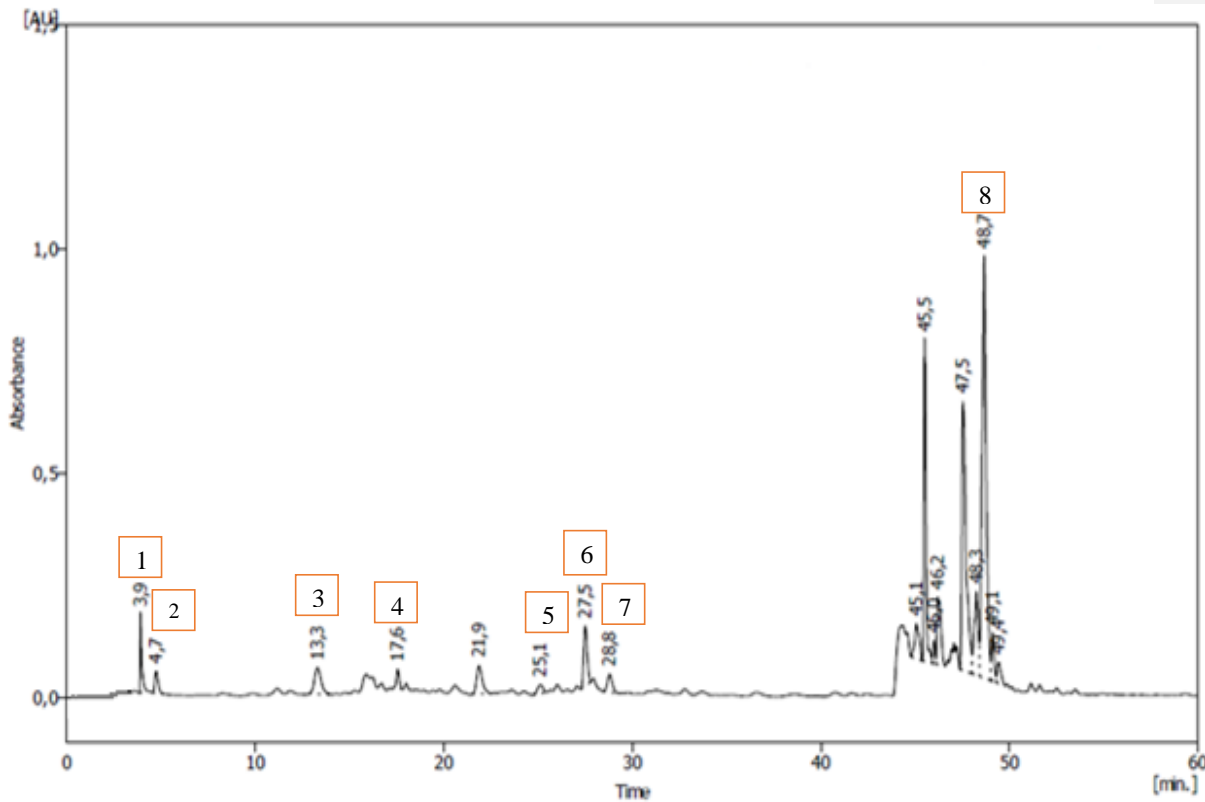


Figure 35: Profil chromatographique à 137 nm de l'extrait méthanolique des feuilles de *T. garganica* analysé par HPLC

(1) Acide ascorbique ; (2) Acide gallique ; (3) Acide tannique (**Figure 6, Annexe 2**) ; (4) Acide caffeique ; (5) Acide *p*-coumarique (**Figure 3, Annexe 2**) ; (6) Acide sorbique ; (7) Acide ferrique (**Figure 4, Annexe 2**) ; (8) thapsigargine.

Composés	Temps de rétention (RT) [min]	Air du pic [mAU.s]	Extrait Méthanolique [mg/g]
Acide Ascorbique	3,9	1009,90	0,17
Acide Gallique	4,7	589,79	0,15
Acide Tanique	13,3	1446,99	0,18
Acide Caffeique	17,6	457,39	0,14
Acide P-coumarique	25,1	369,35	0,14
Acide Sorbique	27,5	1734,86	0,19
Acide Ferrique	28,8	713,29	0,19
Non identifié	45,5	5717,15	-
Non identifié	47,5	9315,83	-
Thapsigargine	48,7	14466,44	0,73

Tableau 11: Composés phénoliques identifiés dans l'extrait des feuilles de *T. garganica*

3.1 Analyse des composés phénoliques de l'extrait méthanolique des racines de *T.garganica* par la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

Le profil chromatographique de l'extrait méthanolique des racines de *T. garganica* est représenté dans la **figure 36**. Les résultats des analyses qualitatives et quantitatives des composés phénoliques identifiés sont regroupés dans le **tableau 12**.

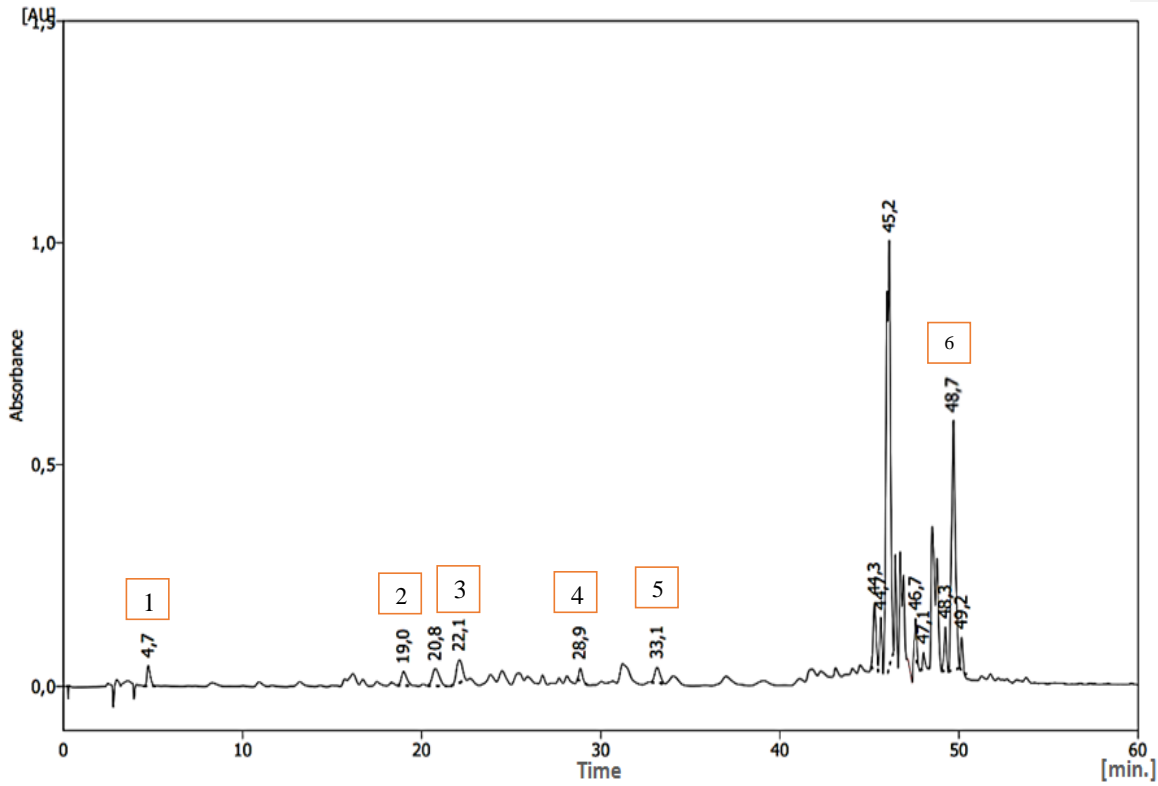


Figure 36 : Profil chromatographique à 137 nm de l'extrait méthanolique de racines de *T. garganica* analysé par HPLC

(1) Acide gallique ; (2) Rutine ; (3) Acide chlorogénique ; (4) Acide ferrique ; (5) Catechine ; (6) Thapsigargine

Tableau 12: Composés phénoliques identifiés dans l'extrait des racines de *T. garganica*

Composés	Temps de rétention (RT) [min]	Air du pic [mAU.s]	Extrait Méthanolique [mg/g]
Acide gallique	4,7	563,43	0,15
Rutine	19,00	515,37	0,15
A- coumarique	20,8	794,39	0,16
Acide chlorogénique	22,1	907,99	0,16
Acide ferrique	28,9	713,29	0,19
Quercitine	44,3	4525,09	0,31
Catechine	45,2	14430,37	0,71
Non identifié	45,5	5717,15	-
Non identifié	46,7	582,32	-
Non identifié	47,5	9315,83	-
Thapsigargine	48,7	14466,44	0,69

L'analyse phytochimique par HPLC des extraits des feuilles et des racines de *T. garganica* a permis de caractériser les principaux composés phénoliques tel que l'acide tannique, la catéchine, la quercitine, l'acide ascorbique, l'acide chlorogénique, la rutine, l'acide 4-hydroxybenzoïque et l'acide cinnamique. Certains composés sont présents en commun dans les extraits des deux organes, il s'agit de la rutine, l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide *p*-coumarique, l'acide sorbique, l'acide ferrique, et le composé le plus majoritaire dans les deux extraits est le thapsigargine.

Les travaux de Taïbi *et al.* (2020) et Jmii *et al.* (2020), ont révélé la même composition phénolique des extraits méthanoliques de *T. garganica*, et dont les composants dominants sont les thapsigargines qui appartiennent au groupe des guaianolides, et des thapsigargines (Martinez-Swatson *et al.*, 2020). Ainsi que, les constituants volatils suivants : les lactones sesquiterpènes δ -cadinene (Khamadj et Dahmani, 2019).

Dans l'ensemble, tous les composés identifiés pourraient être une source potentielle d'antioxydants et d'anti-inflammatoires naturels pour les applications alimentaires et pharmaceutiques (Karadeniz *et al.*, 2021; Paço *et al.*, 2022). En particulier, la bioactivité de la

thapsigargine extraite de *T. garganica* a été étudiée par son utilisation comme molécule antioxydante et anticancéreuse qui conduit à l'apoptose de la tumeur (Jaskulska *et al.*, 2020; Mahmood *et al.*, 2021). Nous pourrions expliquer que l'effet antagoniste de *T. garganica* est dû à la présence de ces métabolites spécialisés et pourrait être attribué à leur forte activité antioxydante.

3.2 Analyse des composés phénoliques de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *L. serriola* par la Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

L'analyse par HPLC des polyphénols de l'extrait méthanolique de *L. serriola* a révélé la présence des composés phénoliques avec leur temps de rétention : d'acide chlorogénique (13,6 mn) (**Figure 1, Annexe 2**), d'acide caféique (18,3mn) (**Figure 5, Annexe 2**), de la rutine (20,8 mn) (**Figure 9, Annexe 2**), d'acide coumarique (22,3 mn), d'acide sorbique (26,4 mn), d'acide o-coumarique (29 mn), d'épicatéchine (29,8 mn), d'acide sinapique (33,7 mn), de la quercétine (44,3 mn) (**Figure 7, Annexe 2**) et d'acide *p*-coumarique (45,4 mn) (**Tableau 13**), (**Figure 37**).

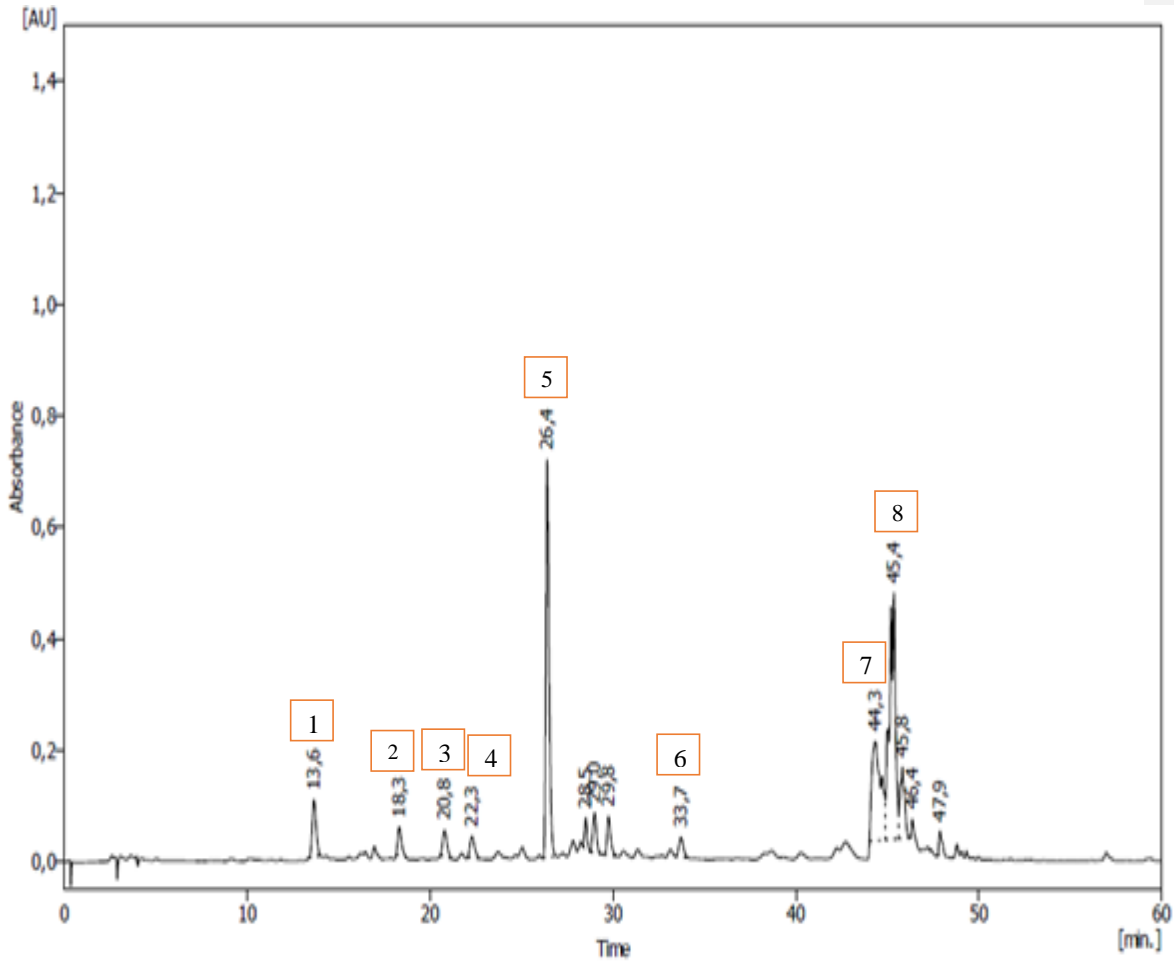


Figure 37: Chromatogramme d'HPLC de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *L. serriola*

(1) Acide chlorogénique (**Figure 1, Annexe 2**) ; (2) Acide caféique (**Figure 5, Annexe 2**) ; (3) Rutine (**Figure 9, Annexe 2**) ; (4) Acide coumarique ; (5) Acide sorbique ; (6) Acide sinapique ; (7) Quercétine (**Figure 7, Annexe 2**) ; (8) *P*-coumarique.

Tableau 13 : Composés phénoliques identifiés dans l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *L. serriola*

Composés	Temps de rétention (min)	Aire du pic	Quantité (mg/g)
Acide chlorogénique	13,6	1507,98	0,18
Acide caféique	18,3	714,23	0,15
Rutine	20,8	782,45	0,15
Acide coumarique	22,3	670,67	0,14
Acide sorbique	26,4	8722,80	0,47
O-coumarique	29	965,24	0,16
Epicatechine	29,8	936,45	0,16
Acide sinapique	33,7	598,52	0,14
Quercétine	44,3	6117,35	0,36
P-coumarique	45,4	10063,38	0,52
Non identifié	45,8	-	-
Non identifié	46,4	-	-
Non identifié	47,9	-	-

L'analyse par HPLC de l'extrait méthanolique de *L. serriola* a révélé la présence de la quercétine, de l'acide *p*-coumarique, de l'acide chlorogénique et de plusieurs autres métabolites, qui pourraient expliquer le pouvoir neutralisant de la plante. Sachant que, la quercétine est très connue pour ses propriétés antioxydantes (Ulusoy et Sanlier, 2020), et l'acide *p*-coumarique pour ses propriétés anti-lipides peroxydantes et anti-apoptotiques qui lui permettent d'inhiber chez les rats l'infarctus du myocarde induit par l'isoprotérénol (Taha *et al.*, 2020), et qui pourraient être utiles dans le cas des envenimations scorpioniques. Ces principes actifs pourraient être les candidats potentiels contribuant à l'effet antivenimeux de *T. garganica* et *L. serriola* contre le venin de *B. occitanus* et *B. atlantis*.

4 Étude des propriétés toxicologiques des différents extraits de plantes étudiées

➤ Résultat de la toxicité aiguë des extraits des plantes

Les résultats de l'étude de la toxicité aiguë, n'ont montré aucun signe de toxicité chez les souris après l'administration orale des extraits des feuilles de *T. garganica* et des parties

aériennes de *L. serriola*, et leur DL₅₀ est supérieure à 5000 mg/kg. Alors que, l'extrait des racines de *T. garganica* a donné une DL₅₀ de l'ordre de 1.6g/kg.

Les animaux ont été mis en observation pendant 14 jours, il n'y a eu aucun changement au niveau de l'aspect général des souris (pilosité, peau, état des yeux, des oreilles et de la bouche). Les animaux n'ont pas eu de diarrhée, ni d'hématurie, ni de mouvements non coordonnés, ni de détresses respiratoires durant la période d'étude. Tous les animaux soumis à l'expérience ont eu un gain de poids, pendant toute la durée de l'étude aussi bien pour les animaux du lot témoin que ceux des lots traités.

Selon l'échelle de la toxicité de Hodge et Sterner (1980), et d'Ouedraogo *et al.* (2001), les extraits des feuilles de *T. garganica* et les parties aériennes de *L. serriola* sont classés dans la catégorie des plantes pratiquement non toxiques ou relativement sans danger (DL₅₀ > 5 g/kg). Nos résultats sont en accord avec d'autres études concernant les feuilles de *T. garganica*, en particulier celles de Berri (2011), qui a montré lors de l'étude de la toxicité des infusions de *T. garganica* que la DL₅₀ est supérieure à 5 g/Kg. Alors que, l'extrait des racines de *T. garganica* a montré une DL₅₀ inférieure à 5 g/Kg qui est de l'ordre de 1.6g/kg.

D'après Weaver et Downs, (2003) et Salih, (2019), les extraits des plantes de *L. serriola* ne présentent pas de toxicité. Ceci correspond à nos résultats qui ont montré que l'extrait méthanolique des parties aériennes de *L. serriola* administré oralement aux souris *swiss* ne présente aucun signe d'intoxication jusqu'à une dose supérieure à 5 g/kg.

5 Étude des activités biologiques des extraits des plantes (*T. garganica* – *L. serriola*)

5.1 Évaluation du potentiel antioxydant des extraits des plantes étudiées

A travers nos recherches bibliographiques et compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il apparaît clairement qu'une seule méthode n'est pas suffisante pour caractériser le potentiel antioxydant d'un échantillon (Shahidi et Zhong, 2015). Il paraît donc nécessaire de combiner les réponses obtenues à l'aide des tests différents et complémentaires. Dans le présent travail, l'évaluation de l'activité antioxydante s'est basée sur l'utilisation des trois tests chimiques dont le principe repose sur des méthodes colorimétriques.

5.1.1 Étude de l'activité antioxydante des extraits étudiés par la méthode de piégeage du radical 2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

La capacité d'une molécule à céder un atome d'hydrogène à un radical détermine son potentiel antioxydant (Islam et Ganesan, 2019). Le pouvoir réducteur des radicaux DPPH qui accepte un atome d'hydrogène d'un antioxydant et devient une molécule diamagnétique stable, est déterminé par la diminution de son absorbance à 517 nm. Les profils d'activité antiradicalaire obtenus révèlent que tous les extraits étudiés (les extraits méthanoliques des feuilles et des racines de *T. garganica* et l'extrait des parties aériennes de *L. serriola*) ont une activité antiradicalaire avec des concentrations dépendantes. L'extrait des feuilles de *T. garcanica* possède un effet piègeur potentiel vis-à-vis du radical DPPH comparé aux autres extraits à une concentration de 44.79 ± 0.003 $\mu\text{g/ml}$ (Tableau 14, Figure 38).

Tableau 14: IC 50 ($\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques de *T. garganica* et *L. serriola* comparée aux antioxydants synthétiques (Quercetine et BHT) pour le test DPPH

	Feuilles de <i>Thapsia garganica</i>	Racines de <i>Thapsia garganica</i>	Parties aériennes de <i>Lactuca serriola</i>	BHT	Quercetine
DPPH ($\mu\text{g/ml}$)	44.79 ± 0.003	113.18 ± 0.0007	47.1 ± 8.015	1.46 ± 0.01	1.57 ± 0.030

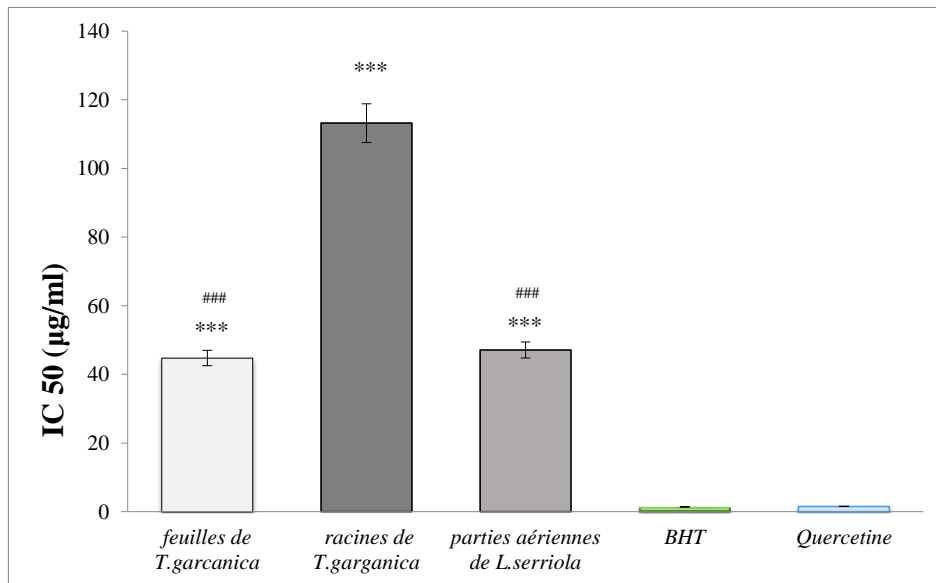


Figure 38: Activité antioxydante des extraits des plantes étudiées par la méthode de DPPH

Les résultats sont exprimés en tant que moyenne \pm SEM d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon

* $p < 0,10$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,001$: significativement différent par rapport aux antioxydants de référence.

$p < 0,10$; ## $p < 0,05$; ### $p < 0,001$: significativement différent entre les groupes d'extraits.

Cette étude révèle que les extraits des feuilles de *T. garganica* et la partie aérienne de *L. serriola* possèdent un effet piègeur potentiel vis-à-vis du radical DPPH suivi de l'extrait de racine de *T. garganica*. D'après ces résultats, l'extrait qui présente une forte activité antioxydante est celui qui possède une teneur élevée en polyphénols (Merah, 2020 ; Alilou et Akssira, 2021).

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Rebaya *et al.* (2016) qui ont rapporté une corrélation significative entre la teneur en polyphénols et l'effet scavenger des extraits de *Cistus salvifolius*. Il a été prouvé aussi que les composés phénoliques particulièrement les flavonoïdes sont principalement responsables de l'effet scavenger des radicaux libres (Amessis-Ouchemoukh *et al.*, 2014; Zhang et Tsao, 2016). Plusieurs auteurs ont rapporté des résultats similaires à notre étude surtout celles observés avec les extraits de *Hertia cheirifolia* et de *Globularia alypum* (Khelifi *et al.*, 2011 ; Bousselssela *et al.*, 2012 ; Taghzouti *et al.*, 2016).

5.1.2 Test de blanchissement de β -carotène

Le test de blanchissement de β -carotène a également été utilisé pour évaluer les propriétés antioxydantes des extraits des plantes étudiées. Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux libres dérivés de l'hydroperoxyde qui attaquent les onze paires de doubles liaisons de la β -carotène, entraînant un blanchissement de la réaction d'émulsion (Karima, 2021). Un extrait capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation du β -carotène peut être utilisé comme éliminateur de radicaux libres et un antioxydant primaire (Marmouzi *et al.*, 2015; Khamadj et Dahmani, 2019 ; Nurrulhidayah *et al.*, 2020).

L'inhibition de l'activité de blanchiment de la β -carotène des extraits est représentée dans le **figure 39**. Tous les extraits étudiés inhibent le blanchiment du β -carotène en éliminant les radicaux libres dérivés du linoleate.

L'extrait méthanolique des parties aériennes de *L. serriola* inhibe la β -carotène avec un taux de 73 ± 0.032 $\mu\text{g/ml}$ qui est plus important que les autres extraits (**Tableau 15, Figure 39**).

Tableau 15: IC50 ($\mu\text{g/ml}$) des extraits méthanoliques de *T. garganica* et *L. serriola* comparée aux antioxydants synthétiques (Quercetine et BHT) pour le test d'inhibition du blanchiment de β -carotène

	Extrait des feuilles de <i>T. garganica</i>	Extrait des racines de <i>T. garganica</i>	Extrait des parties aériennes de <i>L. serriola</i>	BHT	Quercetine
β -Carotène ($\mu\text{g/ml}$)	123.55 ± 2.13	96.8 ± 1.22	73 ± 0.032	1.46 ± 0.01	1.57 ± 0.030

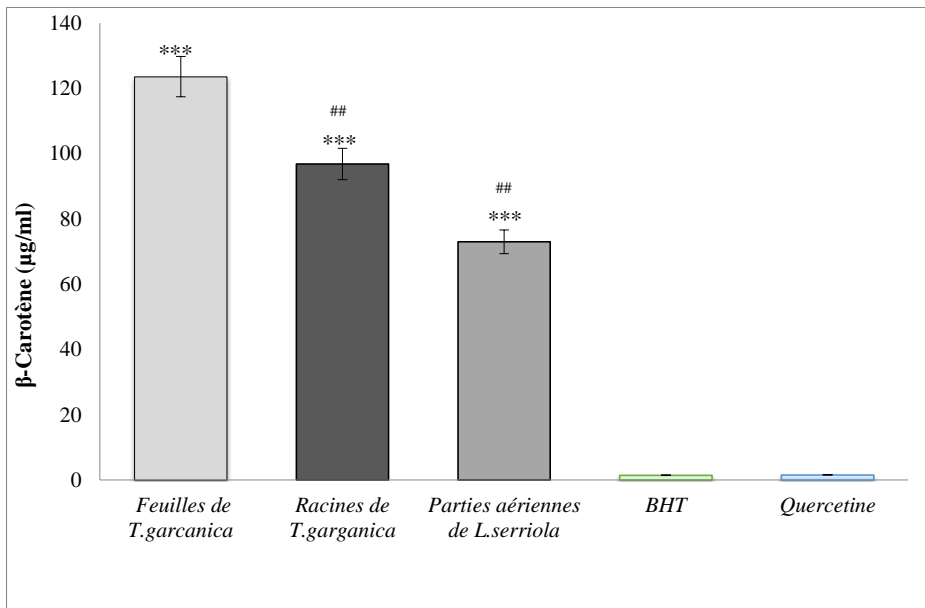


Figure 39: Activité antioxydante des extraits étudiés par la méthode de β-carotène

Les résultats sont exprimés en tant que moyenne \pm SEM d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon

* $p < 0,10$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,001$: significativement différent par rapport aux antioxydants de référence.

$p < 0,10$; ## $p < 0,05$; ### $p < 0,001$: significativement différent entre les groupes d'extraits.

Dans ce test les radicaux libres (hydroperoxydes) produits par l'oxydation de l'acide linoléique, provoquent l'oxydation de la β-carotène hautement insaturée ce qui conduit à sa décoloration (Bendjabeur *et al.*, 2018). Toutefois, la présence d'un antioxydant dans le milieu réactionnel pourrait soit inhiber l'oxydation de l'acide linoléique soit neutraliser les radicaux libres, ou les deux en même temps (Özer *et al.*, 2018 ; Behbahani *et al.*, 2019).

L'oxydation de la β-carotène a été fortement diminuée en présence des extraits des deux plantes, ce qui prouve leur capacité de réagir avec les radicaux libres pour les convertir en espèces non réactives et stables ceci pourrait être lié à la présence des flavonoïdes et des polyphénols qui ont la capacité de piéger les radicaux libres et par conséquent retarder l'auto-oxydation des lipides (Ayala *et al.*, 2014 ; Amina, 2021). Il a été démontré aussi, que la structure et la propriété lipophile des polyphénols favorisent la propriété anti-oxydante, probablement en facilitant

l'incorporation de ces composés dans la phase lipidique de la membrane (Amessis-Ouchemoukh *et al.*, 2014 ; López-Gámez *et al.*, 2021).

Des résultats similaires ont été obtenus avec les extraits de *Hertia cheirifolia* (Bousselsela *et al.*, 2012) et *Globularia alypum* (Khantouche *et al.*, 2015). Les profils d'activité antiradicalaire obtenus avec nos extraits sont en accord avec les travaux de Djeridane et ses collaborateurs (2010), qui ont estimé l'activité anti-radicalaire de plusieurs plantes, dont *Thapsia garganica* en utilisant le radical ABTS (2,2'-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) et de la même manière ils ont trouvé que la capacité des feuilles est plus forte que celle des racines. Effectivement, ces résultats sont confirmés par l'existence d'une corrélation positive entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante. La présence des flavonoïdes peut être responsable de l'activité antioxydante qui inhibe la formation des radicaux libres. Ainsi, ces flavonoïdes pourraient être considérés comme des piègeurs efficaces des radicaux libres, résultant des toxines du venin dans le cas d'envenimation (Chebrouk, 2009).

5.1.3 Capacité du pouvoir réducteur

On remarque que l'extrait des parties aériennes de *L. serriola* présente une meilleure activité réductrice plus que les extraits des feuilles et des racines de *T. garganica* (**Figure 40 ; Tableau 16**). Quantitativement, les parties aériennes de *L. serriola* présentent le taux le plus élevé en composés phénoliques (39.816 mg Eq AG/100g PS) avec la plus forte activité réductrice comparée aux deux autres extraits des feuilles et des racines de *T. garganica*. Cela peut être expliqué par la richesse qualitative de la partie aérienne de *L. serriola* en composés phénoliques (polyphénols – flavonoïdes – tannins).

Tableau 16: IC₅₀ (µg/ml) des extraits méthanoliques de *T. garganica* et *L. serriola* comparée aux antioxydants synthétiques (Quercetine et BHT) pour le test du pouvoir réducteur.

	Extrait des feuilles de <i>T. garganica</i>	Extrait des racines de <i>T. garganica</i>	Extrait des parties aériennes de <i>L. serriola</i>	BHT	Quercetine
Pouvoir réducteur (µg/ml)	103.45± 0.0003	154.55± 0.001	67.13 ±0.014	1.46 ± 0.01	1.57 ± 0.030

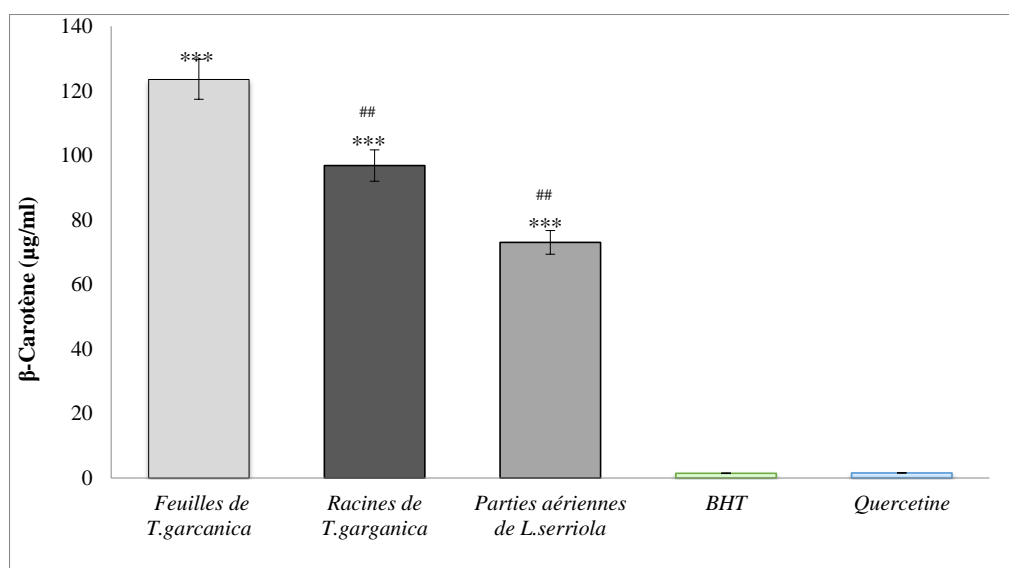


Figure 40: Activité antioxydante des extraits étudiés par la méthode du pouvoir réducteur

Les résultats sont exprimés en tant que moyenne \pm S.E.M d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon

* $p < 0,10$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,001$: significativement différent par rapport aux antioxydants de référence.

$p < 0,10$; ## $p < 0,05$; ### $p < 0,001$: significativement différent entre les groupes d'extraits.

Le pouvoir réducteur correspond à la capacité d'une molécule de céder des électrons dans une réaction d'oxydoréduction, et il est utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante d'un composé (Yuan *et al.*, 2018 ; González-Ballesteros *et al.*, 2021). D'après les résultats obtenus, l'extrait méthanolique des parties aériennes de *L. serriola* montre un pouvoir neutralisant des radicaux libres plus important, suivis par les feuilles puis les racines de *T. garganica*. Cette activité réductrice pourrait être due à la présence des flavonoïdes qui sont des principaux donneurs d'électrons (Selvaraj et Krishnan, 2021). A cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes (Fl-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants (R*), comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle, par transfert d'hydrogène et le radical Flavonoxy (Fl-o) qui peut réagir avec un autre radical pour former une structure stable (Makhloufi, 2013 ; Aryal *et al.*, 2019).

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Rebaya *et al.* (2016), qui ont mis en évidence une corrélation entre la teneur des extraits en polyphénols et en flavonoïdes de *Cistus salvifolius* et son activité antioxydante et réductrice. Plusieurs auteurs suggèrent que l'activité antioxydante des extraits de ces plantes peut être due à la présence d'acides phénoliques et des flavonoïdes (Nayeem et Imran, 2018). L'activité antioxydante des différents extraits a été étudiée dans le but d'évaluer leur potentiel responsable de l'activité antivenimeuse, qui pourrait être expliquée par la présence des polyphénols dont l'activité antioxydante est bien établie. En effet, plusieurs études ont rapporté que l'activité antioxydante des plantes qui ont des propriétés thérapeutiques est due à la présence de substances naturelles principalement des polyphénols et des flavonoïdes (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2019).

L'envenimation scorpionique provoque une perturbation du système antioxydant caractérisée par une production de glutathion (GSH) et par une diminution de l'activité de la catalase. Dousset et ses collaborateurs (2005), ont rapporté également à une augmentation du niveau de NO (monoxyde d'azote) après envenimation expérimentale par *Androctonus australis Hector*, *Tityuszulianus* et des venins de *T. serrulatus* (Dousset *et al.*, 2005). La surproduction de radicaux libres (NO) pourrait s'expliquer par l'activation de la NO synthase après la liaison de la neurotoxine sur leurs cibles cellulaires, ces espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont libérées lors du processus oxydatif après envenimation scorpionique peuvent interagir et exercer leurs effets toxiques en provoquant l'altération de l'intégrité des membranes cellulaires (Bogdanski *et al.*, 2012; Lamraoui *et al.*, 2014). D'après les résultats obtenus sur l'activité antioxydante, il semble que les extraits des plantes étudiées ont maintenu un équilibre oxydant et antioxydant qui est important dans la protection contre l'action toxique du venin des scorpions (Ladjel et Laraba *et al.*, 2020).

5.2 Étude de l'activité analgésique

5.2.1 Test de contorsion

Les résultats présentés dans la **figure 41** montrent que l'administration d'une dose de 150 et 300 mg/kg des extraits méthanoliques des deux plantes *T. garganica* et *L. serriola* ont exercé un effet analgésique contre la douleur provoquée par l'acide acétique. Cependant, l'effet inhibiteur le plus élevé vis-à-vis des contractions abdominales est observé avec les trois extraits à une dose de 300 mg/kg. Le meilleur effet inhibiteur enregistré est celui de l'extrait méthanolique

de *L. serriola* suivi par l'extrait méthanolique des feuilles et des racines de *T. garganica*. Ces effets sont plus importants que ceux observés avec de l'ASA à 200 mg/Kg. On pourrait conclure que ces extraits inhibent significativement la douleur induite chez les souris par le formaldéhyde à 2% par rapport à l'antalgique de référence (l'ASA à 200 mg/kg).

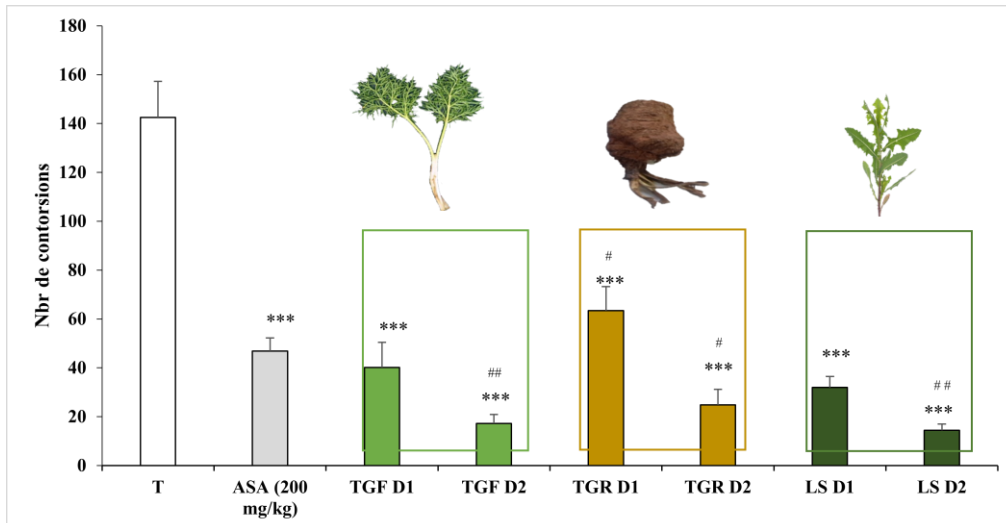


Figure 41: Effet des extraits Met des feuilles de *T. garganica*, des racines de *T. garganica*, des parties aériennes de *L. serriola* et de l'ASA sur les contorsions induites par l'acide acétique chez la souris.

Les résultats sont exprimés en tant que Moyenne \pm S.E.M. d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon.

T : témoin ; LS : *L. serriola*; TGF : feuilles de *T.garganica*; TGR : racines de *T.garganica*; D1: 150 mg/kg ; D2: 300 mg/kg.

* $p < 0,10$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,001$: significativement différent par rapport au témoin

$p < 0,10$; ## $p < 0,05$; ### $p < 0,001$: significativement différent par rapport à l'antalgique de référence (ASA).

Selon Mion *et al.* (2010), l'envenimation se traduit dans la plupart du temps par une douleur intense, et le traitement symptomatique doit donc proposer des antalgiques systématiquement adoptés à l'intensité de la douleur (périphérique ou central). C'est dans ce sens que s'intègre l'étude de l'activité analgésique de nos plantes en utilisant trois tests avec une composante périphérique et centrale.

Pour évaluer cette activité, trois tests largement utilisés ont été retenus. L'injection intrapéritonéale de l'acide acétique chez la souris provoque un syndrome douloureux qui se traduit par des contorsions caractéristiques de type de mouvement d'étirement des pattes postérieures et de la musculature dorso-ventrale (Kouamé *et al.*, 2021). Ces événements sont fortement liés à la sensibilisation des récepteurs nociceptifs qui vont induire la synthèse des sérotonine et d'histamine (Morais *et al.*, 2018 ; Ait Tastift *et al.*, 2022).

Les substances dites analgésiques provoquent une diminution significative de ces contorsions, ce qui est le cas de nos extraits méthanoliques qui possèdent une activité analgésique plus importante à celle obtenue par l'ASA, qui pourrait être expliquée par la présence des flavonoïdes qui sont des inhibiteurs des prostaglandines et des phénomènes inflammatoires (Nunes *et al.*, 2020 ; Karbab *et al.*, 2020). Ces effets de ces extraits pourraient être aussi liés à l'inhibition de la lipooxygénase/cyclooxygénase (LOX/COX) qui entraîne une diminution de la douleur périphérique (Manju *et al.*, 2018).

5.2.2 Test de la plaque chauffante

Comme le montrent les résultats du test antalgique par la plaque chauffante, le puissant effet sur la sensibilité nociceptive en réduisant le temps de latence et le plus proche de celui de la morphine (10mg/kg) est enregistré avec les deux extraits, les feuilles de *T. garganica* [6.3 ± 0.385 ; $P < 0,001$] et les parties aériennes de *L. serriola* [5.88 ± 0.354 ; $P < 0,001$] à une dose de 300mg/kg. L'administration de ces plantes diminue le temps de réaction vis-à-vis du stimulus nociceptif pour le groupe traité par rapport au groupe témoin [Témoin $6.26 \pm 0,271$; $P < 0,001$]

(Figure 42).

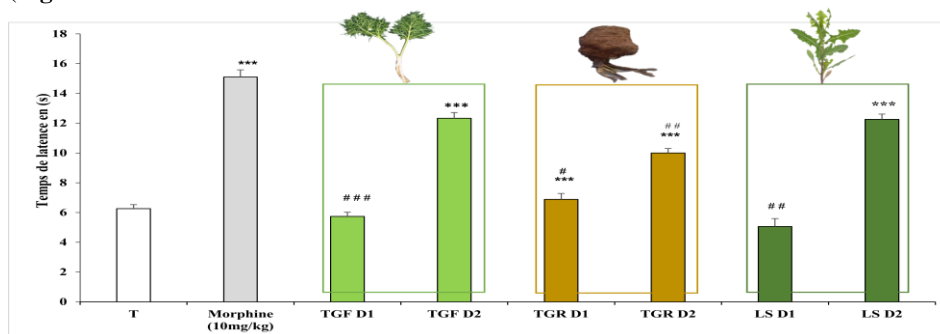


Figure 42: Effet des E.Met des feuilles de *T. garganica*, racines de *T. garganica* et parties aériennes de *L. serriola* sur le temps de latence dans le test de la plaque chauffante chez la souris.

Les résultats sont exprimés en tant que Moyenne \pm S.E.M d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon.

T : témoin ; LS : *L. serriola*; TGF : feuilles de *T.garganica*; TGR : racines de *T.garganica*; D1: 150 mg/kg ; D2: 300 mg/kg.

* $p < 0,10$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,001$: significativement différent par rapport au témoin

$p < 0,10$; ## $p < 0,05$; ### $p < 0,001$: significativement différent par rapport à l'antalgique de référence (Morphine).

Afin de confirmer cet effet central, on a fait appel au test de la plaque chauffante qui a pour but l'étude de l'activité analgésique centrale en augmentant le temps de réaction de l'animal vis-à-vis de ces genres de stimuli comme la morphine qui est un analgésique central, utilisée comme produit de référence. Son pouvoir analgésique résulte de l'activité agoniste des récepteurs opioïdériques, associée à une action inhibitrice de recapture neuronale de la sérotonine et de la noradrénaline (Aminabee *et al.*, 2019 ; Islam *et al.*, 2020).

D'après Aziz *et al.* (2019) et Ofeimun *et al.* (2022), les stimuli thermiques sont sélectivement inhibés par les analgésiques centraux. L'extrait a augmenté le temps de réaction des souris face à la douleur thermique. On peut dire que l'extrait de notre plante possède un effet analgésique central.

Nos résultats sont en accord avec plusieurs études qui suggèrent l'activité antalgique de la plante *T. garganiga* (Berri, 2011; Karadeniz *et al.*, 2021) et de la plante *L. serriola* (Abdul-Jalil *et al.*, 2020 ; Bubenchikov *et al.*, 2020).

5.2.3 Test au formol 'Formalin test'

D'après la **figure 43**, les résultats obtenus dans la phase précoce montrent que les extraits des feuilles et des racines de *T. garganica* et des parties aériennes de *L. serriola* diminuent le temps de léchage de la patte par rapport au groupe témoin ($P < 0,001$) [témoin $122,478 \pm 8,842$]. Cette différence reste statistiquement hautement significative même dans la phase tardive ($P < 0,001$), les trois extraits ont diminué le temps de léchage comparé au groupe témoin $F=28.401$ [traité $29,538 \pm 22,212$ Vs témoin $191,720 \pm 11,007$]. Cet effet est plus important par rapport à celui du groupe traité par l'acide acétylsalicylique (200 mg/kg) (**Figure 44**).

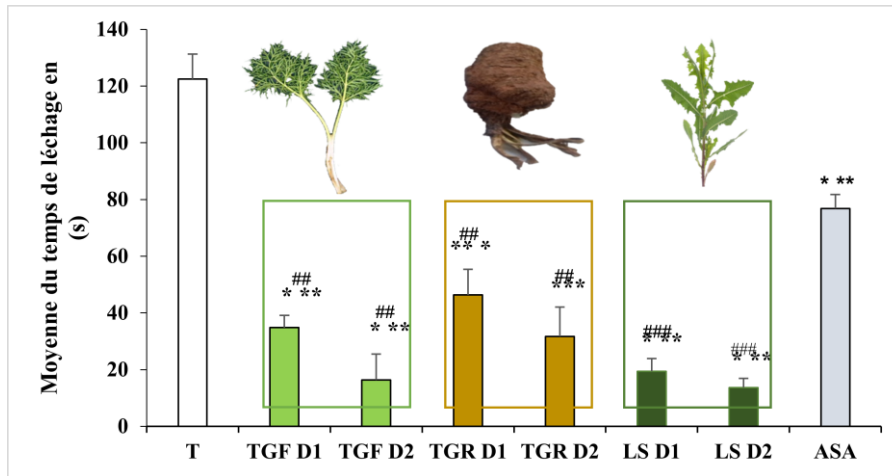


Figure 43: Effet des extraits méthanoliques des feuilles de *T. garganica*, des racines de *T. garganica* et des parties aériennes de *L. serriola* sur la douleur induite par le formaldéhyde au cours de la phase précoce (0 à 5minutes).

Les résultats sont exprimés en tant que Moyenne \pm S.E.M d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon.

*** $P < 0,001$ Vs. T : Témoin ; LS : *L. serriola*; TGF : feuilles de *T. garganica*; TGR : Racines de *T. garganica*; ASA : Acide acétylsalicylique; D1: 150mg/kg ; D2: 300mg/kg.

* $p < 0,10$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,001$: significativement différent par rapport au témoin

$p < 0,10$; ## $p < 0,05$; ### $p < 0,001$: significativement différent par rapport à l'antalgique de référence (Acide acétylsalicylique).

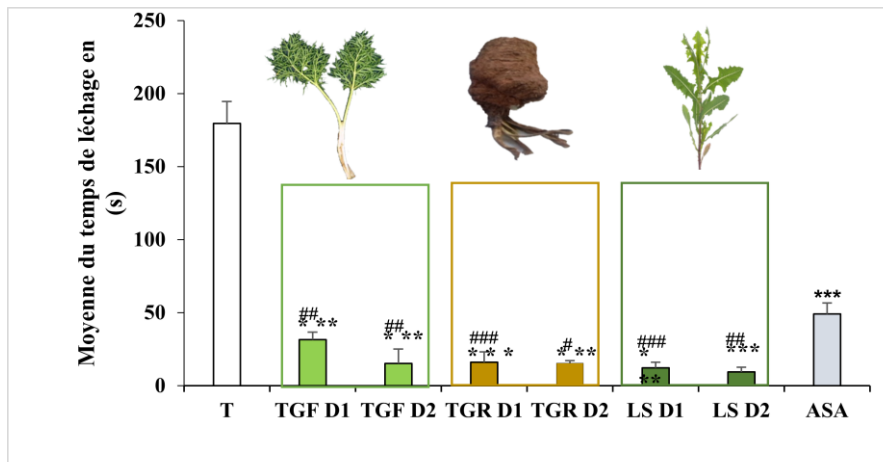


Figure 44: Effet des extraits méthanoliques des feuilles de *T. garganica*, des racines de *T. garganica* et des parties aériennes de *L. serriola* sur la douleur induite par le formaldéhyde au cours de la phase tardive (15 à 30 minutes).

Les résultats sont exprimés en tant que Moyenne \pm S.E.M d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon.

*** $P < 0,001$ Vs. T : Témoin ; LS : *L. serriola*; TGF : feuilles de *T. garganica*; TGR : Racines de *T. garganica*; ASA : Acide acétylsalicylique; D1: 150mg/kg ; D2: 300mg/kg.

* $p < 0,10$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,001$: significativement différent par rapport au témoin

$p < 0,10$; ## $p < 0,05$; ### $p < 0,001$: significativement différent par rapport à l'antalgique de référence (Acide acétylsalicylique).

Afin de confirmer les résultats des tests précédents, une étude avec le formaldéhyde comme inducteur de nociception a été réalisée (Test au Formol), en utilisant la morphine comme molécule de référence. Dans ce test, deux phases sont distinguées, une phase précoce (0-5 min) due à l'activation des fibre-C et un stimulus périphérique causé par le formaldéhyde, la deuxième phase (15-30 min) est en relation avec la réponse inflammatoire au cours de laquelle il y a libération de la sérotonine, l'histamine, les bradikines et les prostaglandines qui provoquent la sensibilisation des neurones nociceptifs centraux (Abdi, *et al.*, 2020 ; Bouhanika *et al.*, 2020). Tous les extraits ont montré des effets inhibiteurs sur les deux phases (précoce et tardive) de la douleur, semblablement aux analgésiques centraux comme la morphine qui inhibe les deux phases du test de formaldéhyde (Obese *et al.*, 2021).

D'après ces résultats, on peut dire que les extraits méthanoliques des deux plantes sont des analgésiques périphériques et centraux. De ce fait, ces extraits auraient le même mécanisme d'action que l'ASA, l'indométhacine et la phénylbutazone qui sont dotées d'activités analgésiques périphériques. Ils possèdent aussi le même mécanisme de la morphine, l'oxycodone, la péthidine, l'hydromorphone, le sufentanil, en bloquant de façon réversible la cyclo-oxygénase au niveau du système nerveux central et empêche donc la production des prostaglandines responsables de la fièvre (effet anti-pyrétique central) et de la sensibilisation des nocicepteurs périphériques (effet antalgique périphérique) (Nesa *et al.*, 2018 ; Ribeiro *et al.*, 2021). D'après ces résultats on peut conclure que c'est grâce à cette propriété antalgique que nos plantes pourraient contrebalancer les douleurs induites par l'envenimation scorpionique.

5.3 Étude de l'activité anti inflammatoire

L'inflammation induite par l'injection sous plantaire de la carragénine au lot témoin entraîne une augmentation significative du volume moyen de l'œdème de 77.362, 89.239 et 90.27 respectivement à T_{1h} , T_{3h} et T_{6h} avec un maximum enregistré à 6h00 (**Figure 45**). L'administration orale de médicament de référence, le Diclofénac (75mg/3ml) à une dose de 0.14 mg/kg a réduit de façon significative l'augmentation du volume de la patte gauche avec un volume de 40.776, 35.922 et 1.94 respectivement aux temps T_{1h} , T_{3h} et T_{6h} après l'injection de la carragénine. L'administration de l'extrait méthanolique des feuilles de *T.garganica* à une dose de 300 mg/kg prévient de manière significative ($p < 0.05$) l'œdème de la patte des souris induites par la carragénine. Les trois extraits administrés par voie orale aux doses de 150 et 300 mg/kg induisent une diminution de volume de l'œdème par rapport au témoin à 1h00, 3h00 et 6h00 ce qui suggère que les deux plantes possèdent une action anti-inflammatoire (**Figure 46**).

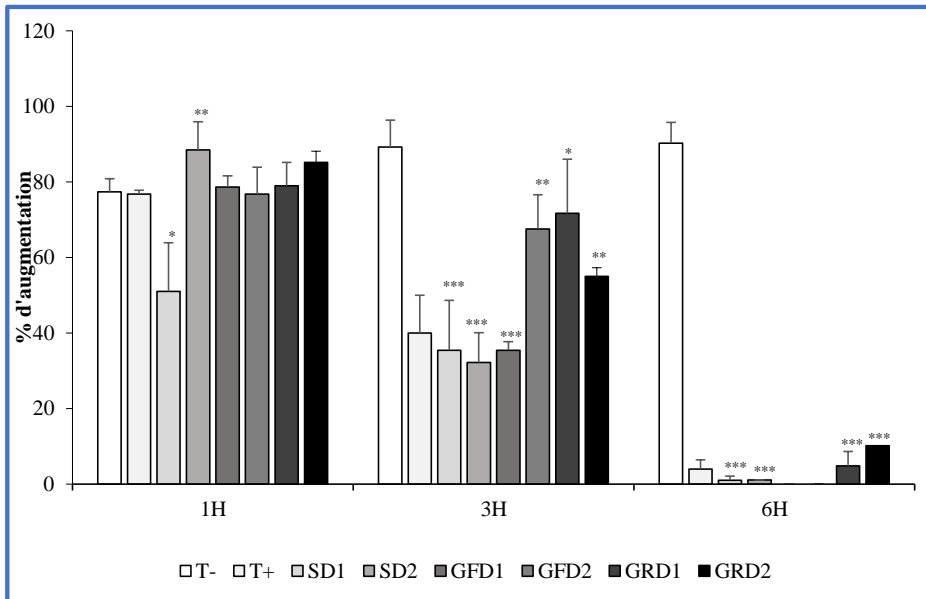


Figure 45: Variation du volume de la patte de la souris induite par la carragénine.

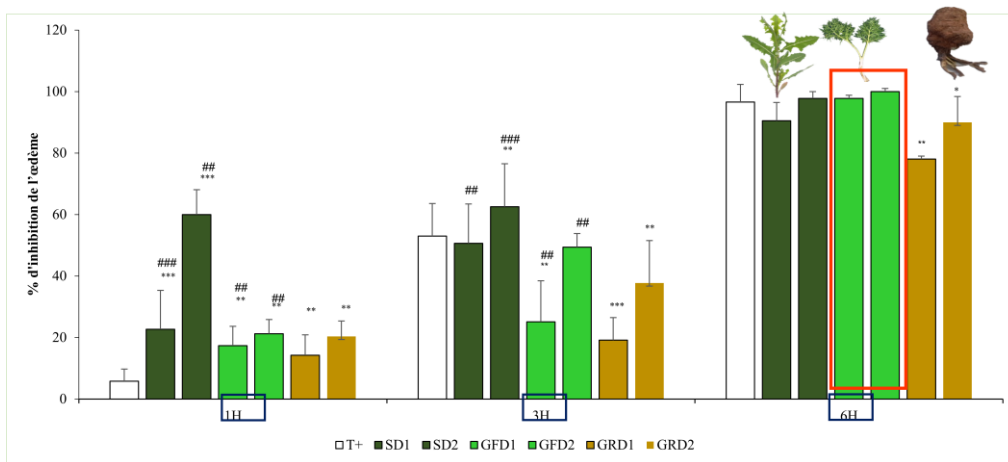


Figure 46: Variation du pourcentage moyen d'inhibition de l'œdème après administration des extraits (SD ; GF ; GR) à la dose (150 mg ; 300 mg) aux souris *Swiss*. Les résultats sont exprimés en tant que Moyenne \pm S.E.M d'au moins trois essais indépendants de chaque échantillon.

* $p < 0,10$; ** $p < 0,05$; *** $p < 0,001$: significativement différent par rapport au témoin.

T : témoin ; SD1 : *L. serriola*; GF : feuilles de *T.garganica*; GR : racines de *T.garganica*; D1: 150 mg/kg ; D2: 300 mg/kg. T : témoin ; SD1 : *L. serriola*; GF : feuilles de *T.garganica*; GR : racines de *T.garganica*; D1: 150 mg/kg ; D2: 300 mg/kg.

D'après les résultats obtenus on peut conclure que les extraits méthanoliques des feuilles et des racines de *T. garganica* et des parties aériennes de *L. serriola* possèdent une activité anti- inflammatoire intéressantes qui se rapproche de celle des anti-inflammatoires de référence (**Figure 46**).

L'inflammation est un processus parmi plusieurs qui est inclus dans la physiopathologie de l'envenimation scorpionique. A travers ce test on veut montrer que nos plantes sont impliquées aussi dans la voie inflammatoire.

L'œdème provoqué par la carragénine dans la patte de la souris, comporte trois phases distinctes : une première phase qui fait intervenir l'histamine et la 5-hydroxytryptamine qui favorise la vasodilatation, la transsudation plasmatique et l'œdème, une deuxième phase qui fait appel aux kinines comme médiateurs augmentant la perméabilité vasculaire et une troisième phase dont le médiateur est supposé être la prostaglandine (Oguntibeju, 2018). Cette libération de prostaglandines est associée à la migration leucocytaire dans la zone enflammée. Les prostaglandines interviennent aussi dans les processus inflammatoires aigus ou chroniques (Ginwala *et al.*, 2019). De plus, plusieurs études ont démontré que l'envenimation scorpionique grave est associée à une réaction inflammatoire systémique, qui engendrent une décharge massive des neurotransmetteurs (Bahloul *et al.*, 2017) comme le cas provoqué par la carragénine. Les résultats obtenus montrent que les extraits méthanoliques des deux plantes à une dose de 300 mg/kg ont exercé un effet anti-oedémateux meilleur que celui de molécule de référence, le Diclofénac. L'inhibition la plus élevée de l'oedème a été observée après 4h de l'induction de l'inflammation, ce qui suggère que l'activité anti-inflammatoire des extraits s'exerce davantage sur la synthèse des médiateurs lipidiques (prostaglandines et leukotrienes) pro-inflammatoires durant la deuxième phase de l'inflammation (Ouédraogo *et al.*, 2012).

La richesse de nos plantes en polyphénols et en flavonoïdes explique en grande partie leur effet anti-inflammatoire. Particulièrement, les flavonoïdes aglycones comme la quercétine, l'acide gallique, la catéchine sont responsables de l'inhibition et de l'activation des promédiateurs essentiels pour l'expression des cytokines pro-inflammatoires (Hussain *et al.*, 2020).

En plus, les tanins ont la capacité d'inhiber la phospholipase A2, conduisant ainsi à l'inhibition des leucotriènes et des prostaglandines (Ciumărnean *et al.*, 2020 ; Enechi *et al.*, 2021).

Nos résultats sont en désaccord avec ceux de (Berri, 2011) qui a montré que le traitement par des infusions de racines de *T. garganica* n'a aucun effet sur l'inflammation.

D'autre part, nos résultats corroborent avec ceux d'Orhan *et al.*, (2007) concernant la plante *L. serriola*.

Plusieurs études ont montré que les désordres biologiques consécutifs à une envenimation scorpionique sont dus à une réponse inflammatoire caractérisée par la libération de divers médiateurs inflammatoires (Chacko *et al.*, 2010 ; Feily *et al.*, 2012), qui sont exprimés en réponse aux toxines du venin de scorpion (Bode *et al.*, 2009 ; Lee *et al.*, 2012). De même, d'après les résultats obtenus les extraits des plantes étudiées sont capables d'inhiber de manière très significative cette inflammation.

6 Étude des propriétés toxicologiques des venins des scorpions

6.1 Étude des propriétés du venin du scorpion *B. occitanus*

6.1.1 Dosage des protéines du venin

La mesure de la densité optique des protéines contenues dans le surnageant du venin à une longueur d'onde de 595 nm de *B. occitanus* a révélée une moyenne de densité optique de l'ordre de 0.157. D'après la courbe d'étalonnage, la concentration du venin est de l'ordre de 13.32 µg/µl. Puisque nous avons utilisé un volume de 2 µl, on a divisé cette concentration par 2 afin d'obtenir une valeur de 6.66 µg/µl (**Figure 47**).

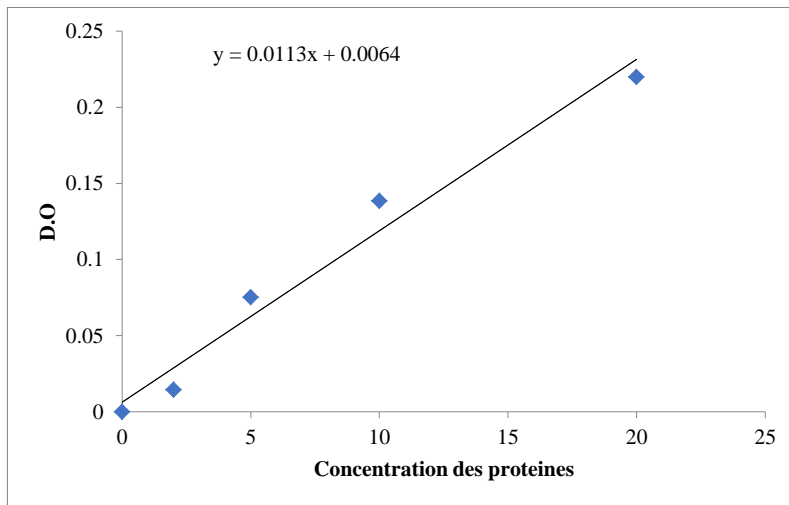


Figure 47: Courbe de la gamme étalon de la teneur en protéines du venin

6.1.2 Détermination de la DL₅₀ du venin

Dans le but de déterminer la toxicité du venin de *B. occitanus* (DL₅₀), quatre doses ont été choisies en partant d’aucun cas de décès à 100% de mortalité.

Le nombre de souris décédées est déterminé pour chaque groupe et le pourcentage de mortalité est calculé, puis transformé en Probit en utilisant une table de conversion. Ainsi, la DL₅₀ est déterminée à partir de la courbe soit par projection ou à l’aide de l’équation représentée sur la figure 46. D’après les résultats obtenus dans le **tableau 17** et la courbe de la **figure 48**, nous avons noté que la DL₅₀ du venin *B. occitanus* par voie sous cutanée est de :

$$DL_{50} = \text{Anti log}(2.72) = 0.524 \text{ mg/kg}$$

Tableau 17: Calcul du probit pour la détermination de la DL₅₀

Concentration (µg/kg)	Log10 concentration	Effectif	Nombre De morts	Mortalité%	Probit
400	2,6	5	0	0%	3,35
500	2,69	5	2	40%	4,75
600	2,77	5	3	60%	5,25
700	2,84	5	5	100%	6,65

Pour obtenir le probit de 0% et 100% on a utilisé les formules suivantes :

0% = $(0.25/n) \times 100$ et **100%** = $100 \times [(n-0.25)/n]$ avec n : l’effectif

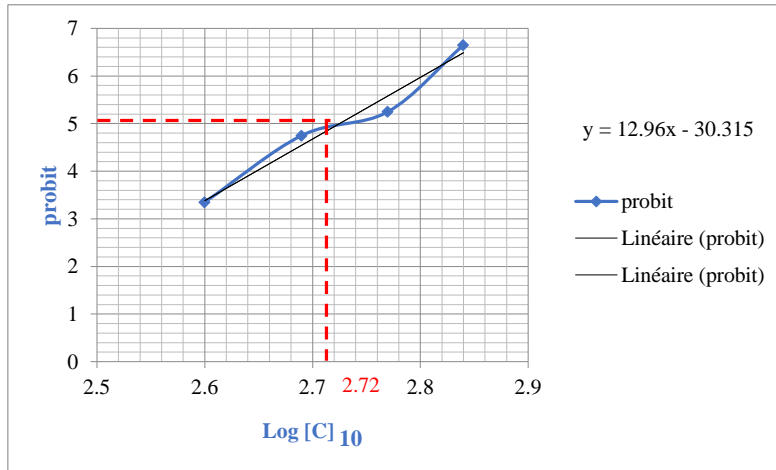


Figure 48: Courbe de détermination de la dose létale 50 du venin de *B. occitanus*

6.1.3 Détermination de la DL₉₉ du venin

L'objectif de cette partie est de déterminer la dose létale qui provoque la mort de 99% de l'effectif total. On a choisi cette dose car les chances de mortalité des souris à la DL₉₉ sont plus importantes que la DL₅₀. La DL₉₉ injectée aux souris produit 100% de décès et sa détermination a été basée sur la même méthode que celle de la DL₅₀. D'après la **figure 49** on constate que la DL₉₉ du venin *B. occitanus* par voie sous cutanée est de $DL_{99} = \text{Anti log}(2.84) = 0.69\text{mg/kg}$.

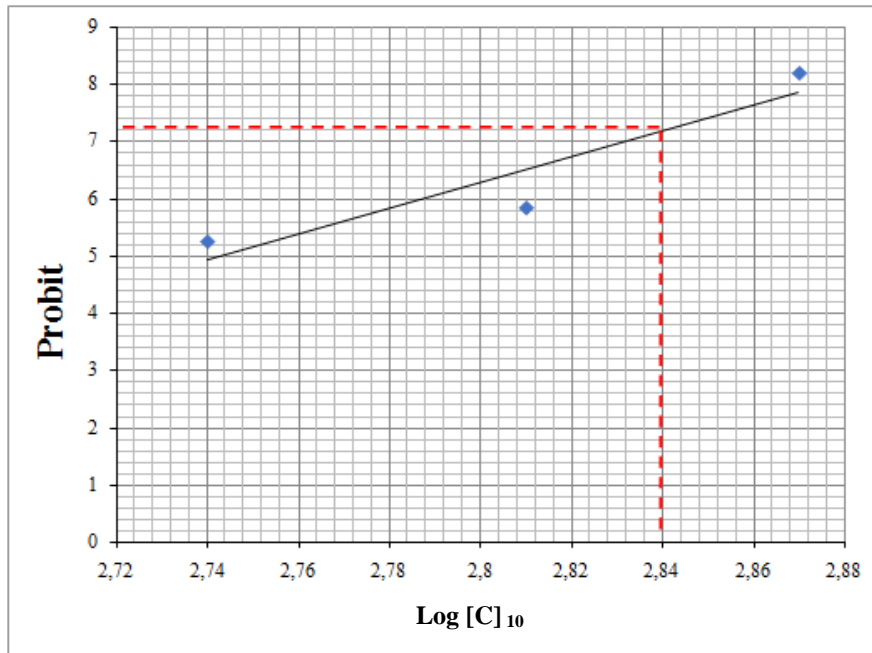


Figure 49: Courbe de détermination de la Dose létale 99 du venin du scorpion *B. occitanus*

6.2 Étude des propriétés du venin du scorpion *B. atlantis*

6.2.1 Dosage des protéines du venin

La concentration en protéines du venin du scorpion *B. atlantis* est déterminée par la projection de la densité optique moyenne sur l'axe des abscisses de la courbe d'étalonnage de BSA, qui correspond à 0.212 à une longueur d'onde de 595 nm. D'après la courbe, nous avons noté une concentration du venin *B. atlantis* de l'ordre de 7,7 μ g/5 μ l soit 1.54 μ g/ μ l (**Figure 50**).

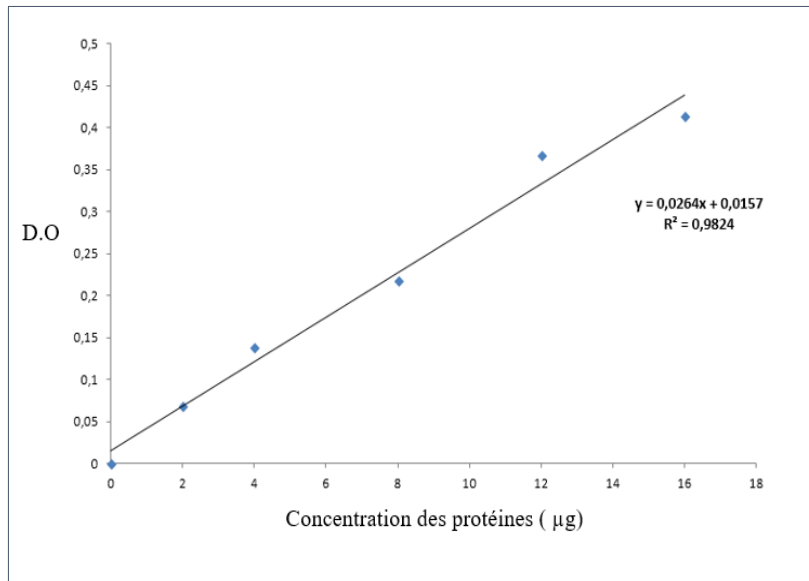


Figure 50: Courbe d'étalonnage de la teneur en protéines du venin du scorpion *B. atlantis*

6.3 Détermination de la DL_{50} du venin *B. atlantis*

Les résultats obtenus après injection des doses croissantes du venin des scorpions *B. atlantis* par voie sous-cutanée à des groupes composés de six souris sont reportées sur le **Tableau 18**. Pour chaque groupe, le pourcentage de mortalité est calculé et transformé en probit. La détermination de la DL_{50} est réalisée par projection sur la courbe de la **Figure 51**. Les pourcentages de mortalité pour 0 et 100 sont corrigés avant la détermination des probits comme suit : Pour 0% de morts : $100 (0,25 / n)$; Pour 100% de morts : $100 (n-0,25 / n)$ avec n : l'effectif.

Tableau 18: La détermination de la DL₅₀ après injection sous cutanée du venin des scorpions *B.atlantis* chez les souris

Dose (µg/kg)	Log10 dose	Nombre d'animaux	Nombre de morts	Pourcentage de mortalité (%)	Pourcentage corrigé (%)	Probit
300	2,47	6	0	0	4,16	3,25
350	2,54	6	2	33,33	33,33	4,56
400	2,6	6	3	50	50	5
500	2,69	6	4	66,67	66,67	5,41
600	2,77	6	6	100	95,83	6,65

Les valeurs de probit sont représentées en fonction des log-doses, puis la dose correspondante au probit 5, c'est-à-dire 50% est déterminée (**Figure 51**). Dans notre étude, le log DL₅₀ est de 2,6. D'après la formule suivante : $DL_{50} = \text{Anti log}(2.6)$, donc la **DL₅₀ = 0,4 mg / kg, soit 400µg / kg**.

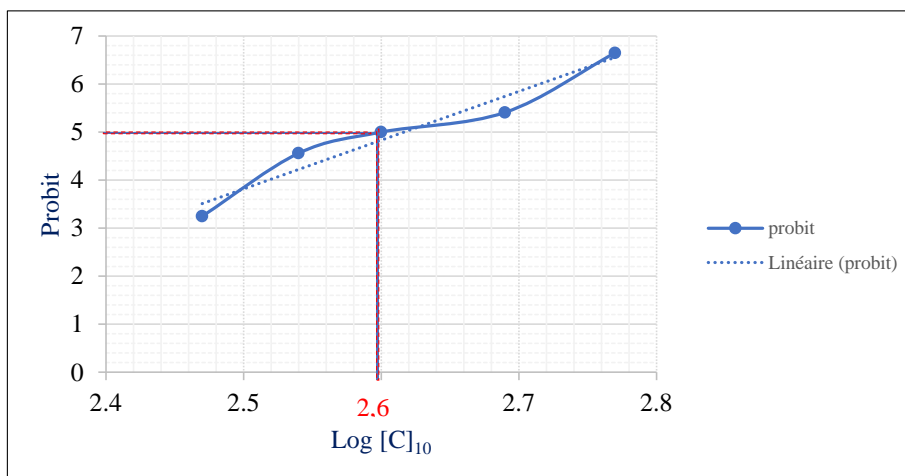


Figure 51: Courbe de la dose létale 50 du venin des scorpions *B. atlantis*

6.3.1 Détermination de la dose létale 99 (DL₉₉) du venin

La dose létale 99% est déterminée en suivant la même méthode utilisée dans la détermination de la dose létale 50 (DL₅₀).

D'après la **figure 52** on constate que la DL₉₉ du venin du scorpion *B. atlantis* injectée par voie sous-cutanée est de $DL_{99} = \text{Anti log}(2.77) = 0.59\text{mg/kg}$.

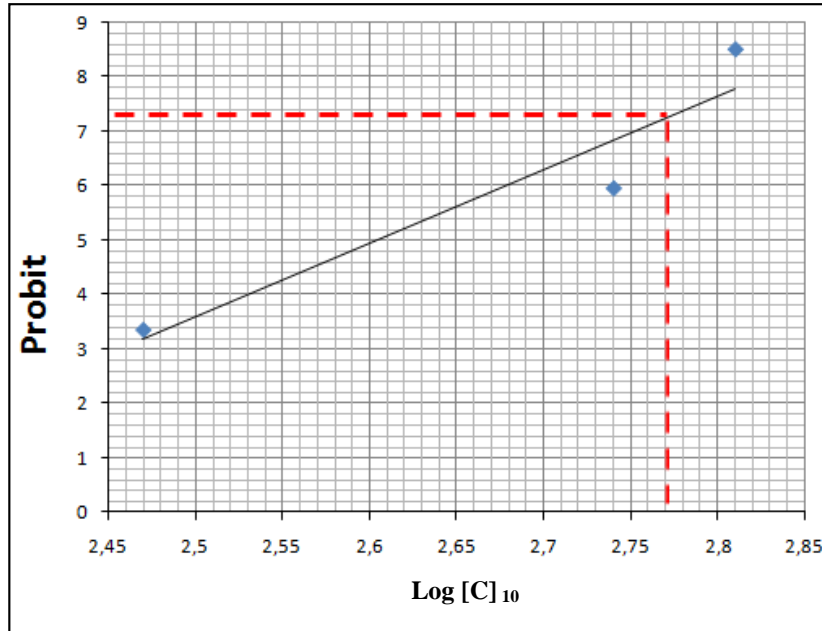


Figure 52: Courbe de détermination de la Dose létale 99 du venin des scorpions *B. atlantis*

L'envenimation scorpionique constitue un problème fortement lié à la présence d'une faune scorpionique réputée dangereuse à venin toxique. Plusieurs études ont été effectuées sur le scorpion noir *Androctonus mauritanicus*, mais peu d'études ont été publiées sur les effets toxicologiques des venins de *B. occitanus* et *B. atlantis*. C'est dans ce contexte que s'intègre l'étude de la toxicité du venin de *B. atlantis* de la région d'Essaouira, et du venin des scorpions *B. occitanus* collectés de la région d'El-Jadida. Le premier venin nous a donné une DL₅₀ de 0.524 mg /kg, alors que le deuxième nous a donné une valeur de l'ordre de DL₅₀ de 0,4 mg/kg. D'après l'étude de Diezi en 1989, et les travaux de Nene Bi et ces collaborateurs en 2008, les substances peuvent être classées selon leurs DL₅₀ en substances hautement toxiques (DL₅₀ inférieure à 5 mg/kg du poids corporel) et en substances faiblement toxiques (DL₅₀ supérieure à 5000 mg/kg). Les valeurs de DL₅₀ (0.524 mg/kg ; 0,4 mg/kg) que nous avons obtenues classent les venins de *B. occitanus* et *B. atlantis* parmi les substances hautement toxiques ce qui caractérise la dangerosité de ces scorpions.

Selon Hassan, (1984) et Zlotkin, (1972), la DL₅₀ du venin de *B. occitanus* de la région méditerranéenne administrée par voie sous-cutanée à des souris est de 0.9 mg/kg, qui est différente à la DL₅₀ de notre étude (0,524mg/kg). Cela soutient l'idée que la toxicité du venin varie selon l'espèce et parfois même sous espèce, sa taille, son âge, sa nutrition et les conditions climatiques et géographiques (Bouimeja *et al.*, 2021 ; Mendoza-Tobar *et al.*, 2021).

Concernant l'espèce de scorpions *B. atlantis* en comparant sa DL₅₀ (0,4 mg/kg) avec celle des autres espèces, elle est moins toxique que *Buthus lienhardi* dont la DL₅₀ est 0,27 mg/kg (Ait Laaradia *et al.*, 2018), mais plus toxique que *Buthus occitanus* qui a une DL₅₀ de 0,524 mg/kg (Bouimeja *et al.*, 2018).

6.3.2 Observation des signes de toxicité

Durant le test de la détermination de toxicité aigüe, les animaux ont été observés pendant les 2 premières heures, puis à 6 et 24 heures afin de déterminer les signes de toxicité. Les réponses observées sont présentées dans la **figure 53** selon l'ordre d'apparition comme suit :

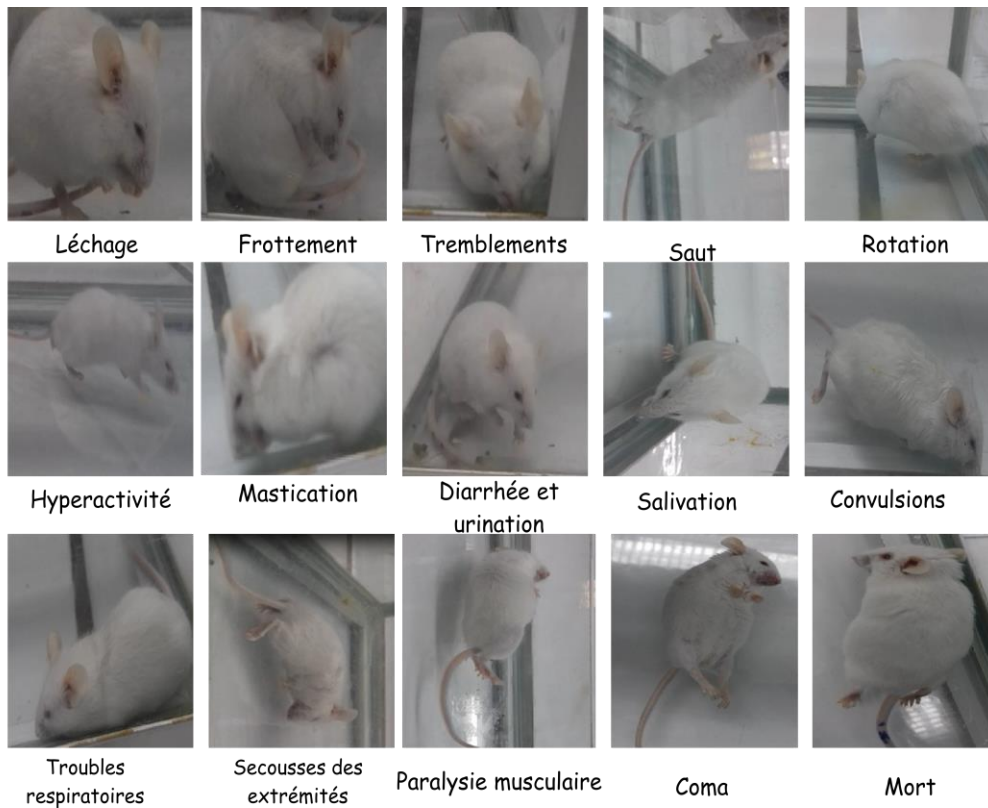


Figure 53: Classement des signes de toxicité observés chez les souris envenimées selon l'ordre d'apparition

Pendant la détermination de la toxicité aiguë, les souris envenimées ont montré divers symptômes d'intoxication tels que : excitabilité, hyper salivation, faiblesse, toilettage, troubles respiratoires, mastication, secousses des extrémités, frottement des membres, paralysie, coma et finalement la mort. La rapidité d'apparition de ces symptômes est corrélée à la dose du venin (DL_{50} , DL_{99}). La cause possible de la mort de l'animal pourrait être due à une défaillance des organes multi-système par l'effet toxique du venin (Amr *et al.*, 2021). Cette observation est en accord avec d'autres études effectuées par El Hidan *et al.* en 2016 sur le venin du scorpion *Androctonus liouvillei* et les travaux de Ait Laaradia *et al.* en 2018 sur le venin du scorpion *Buthus lienhardi*.

6.4 Étude des propriétés toxicologiques des espèces de scorpions du genre *Buthus*

6.4.1 Détermination de la teneur en protéines des venins

L'absorbance des échantillons des venins extraits des espèces de scorpions étudiés est mesurée. Les valeurs obtenues à partir des tubes de la gamme standard permettent de tracer une droite standard : absorbance = f (quantités). Cette proportionnalité permet de déterminer la quantité de protéine contenue dans chaque venin des espèces étudiées.

La concentration en protéines contenue dans le venin de chacun des espèces de scorpions étudiées montre une valeur de teneur en protéines de 7,85 $\mu\text{g} / \mu\text{l}$ dans le venin de *B. lienhardi*, suivi par celui de *B. atlantis* avec une valeur de 7,7 $\mu\text{g} / \mu\text{l}$, puis par *B. paris*, *B. occitanus* et *B. mardochei* avec respectivement des valeurs de 7,62 $\mu\text{g} / \mu\text{l}$, 6,66 $\mu\text{g} / \mu\text{l}$ et 6,4 $\mu\text{g} / \mu\text{l}$ respectivement (**Figure 54**).

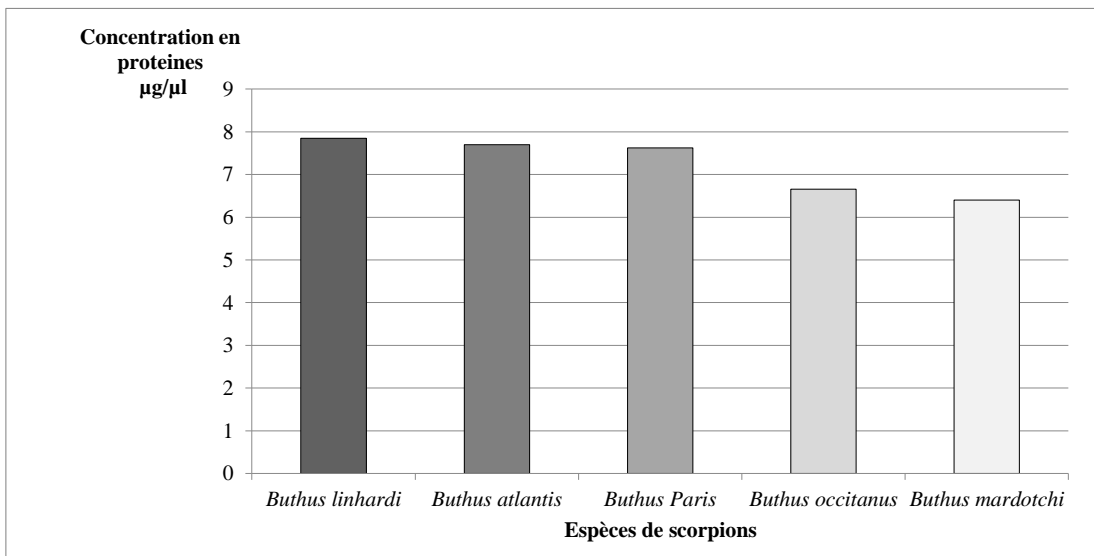


Figure 54: Teneur en protéines des venins des espèces de scorpions étudiées.

6.4.2 Détermination et comparaison des doses létales médiane (DL₅₀) des venins

Les valeurs DL₅₀ des venins de scorpion collectés sont évaluées chez des souris *Swiss* de poids corporel de 25 ± 2 g injectées par voie S.C (**Tableau 19**).

Les données expérimentales indiquent que le venin le moins toxique est celui de *B. mardochei*. Alors que, le venin de *B. occitanus* est environ deux fois plus toxique que le venin de *B. mardochei*. Ainsi, le venin de *B. lienhardi* est plus toxique que celui de *B. mardochei*, de *B. paris* et de *B. atlantis*.

Tableau 19: Valeurs de DL₅₀ du venin d'espèces de scorpions étudiées par mode d'injection sous-cutanée calculées par la méthode de probit

Espèces de scorpions	Dose (µg/kg)					Poids des souris (g)	Nombre de survivants après 24h					Probit					DL ₅₀ (mg/kg)
<i>Buthus mardochei</i>	900	1000	1200	1300	1500	25-27	0	3	4	6	8	3,35	3,25	5	5,67	6,65	1.00
<i>Buthus occitanus</i>	300	350	400	500	600	25-27	0	4	5	6	8	3,25	5	5,31	5,67	6,65	0.52
<i>Buthus paris</i>	450	500	550	600	650	25-27	0	2	4	7	8	3,35	4,33	5	6,13	6,75	0.45
<i>Buthus atlantis</i>	400	500	600	650	700	25-27	0	2	5	6	8	3,35	4,33	5,31	5,67	6,75	0.40
<i>Buthus lienhardi</i>	160	200	250	270	320	25-27	0	3	4	5	8	3,25	4,67	5	5,31	6,75	0.27

6.4.3 Comparaison des doses létales (DL₅₀) des venins étudiés

Dans cette expérience nous avons essayé de comparer la toxicité des venins des scorpions étudiés avec celle des venins des autres espèces de scorpions connue par la toxicité de leurs venins (Tableau 20).

Tableau 20: Comparaison de la toxicité des venins des espèces de scorpions étudiées avec celle des autres espèces connues par la toxicité de leurs venins

Scorpions de notre étude	DL ₅₀ mg/kg des souris	Origine	Référence
<i>B. lienhardi</i>	0.27	Maroc	La présente étude
<i>Androctonus australis</i>	0.3	Algeria, Tunisia, Lybia	Simard and Watt, 1984
<i>Centruroides santa maria</i>	0.39	Central Amerique	Zlotkin, 1971
<i>B. atlantis</i>	0.40	Maroc	La présente étude
<i>Tityus serrulatus</i>	0.43	Brazil	Fischer and Bohn, 1957
<i>B. paris</i>	0.45	Maroc	La présente étude
<i>Androctonus crassicaulla</i>	0.5	Middle Ariary	Hassan, 1984, Zlotkin, 1976
<i>B. occitanus</i>	0.52	Maroc	La présente étude
<i>Buthacus arenicola</i>	0.99	L'Afrique du Nort	Zlotkin, 1971
<i>B.mardochei</i>	1.00	Maroc	La présente étude
<i>Hottentotta saulcyi</i>	1.01	Iran	Hassan, 1984
<i>Buthus occitanus mardochei</i>	1.5	Maroc	Emerich <i>et al.</i> , 2017

Toutes les espèces de scorpions sont venimeuses. Cependant, quelques espèces seulement sont dangereuses pour l'homme (Amr *et al.*, 2021). Presque toutes ces espèces mortelles appartiennent à la famille des Buthidea où *B. lienhardi* est spécifiquement classé parmi les scorpions les plus toxiques avec une DL₅₀ de 0,27 mg / kg, suivie par le scorpion *B. atlantis* qui possède une DL₅₀ de l'ordre de 0,40 mg / kg moins que le scorpion brésilien *Tityus serrulatus* (0,43 mg / kg). Alors que *B. paris* (0,45 mg / kg) révèle une plus grande toxicité que *Androctonus crassicaulla* (0,5 mg / kg) et *B. occitanus* (0,52 mg / kg). La toxicité de *B. mardochei* (1,00 mg / kg) est comprise entre celle de *Buthacus arenicola* (0,99 mg / kg) et celle de *Hottentotta saulcyi* (1,0 mg / kg). Tous les scorpions étudiés présentent une toxicité plus faible que celle décrite pour le venin du scorpion noir endémique du Maroc *Androctonus mauritanicus* (DL₅₀ allant de 0,050 - 0,2 mg / Kg), qui pourrait être considéré comme le venin de scorpion marocain le plus toxique (Emerich *et al.*, 2017).

7 Étude *in vivo* de l'activité antivenimeuse de *T. gargarica* et de *L. serriola* contre les venins des scorpions *B. occitanus* et *B. atlantis*

7.1 Test de neutralisation du venin de *B. occitanus* par l'extrait méthanolique des feuilles de *T. gargarica*

Nous avons constaté que l'injection sous cutanée du venin de *B. occitanus* induit un temps de survie moyen de 27.90 min. Une dose de 1g/kg de l'extrait de *T.gargarica* administrée après 5 min de l'injection du venin, induit un temps de survie moyen de 33,616 min. Donc, l'extrait de *T. gargarica* avec une dose de 1g/kg semble avoir une activité antivenimeuse en favorisant une augmentation du temps de survie de l'ordre de 5.716 min. Durant toutes les expériences effectuées, les lots auxquels nous avons administré l'extrait de la plante seule, et le groupe de contrôle ne montrent aucun signe de toxicité et restent toujours en vie.

L'enregistrement de la durée entre l'injection du venin et le décès de l'animal désigne une survie de 27 min 90s. Tandis que le groupe des souris administré par l'extrait des feuilles de *T.gargarica* a une dose de 2 g/kg montre un effet protecteur total chez 40% des souris contre le venin de *B. occitanus* et les 60% montrent d'avantage une moyenne de survie de 1837.73 min (**Figure 55**).

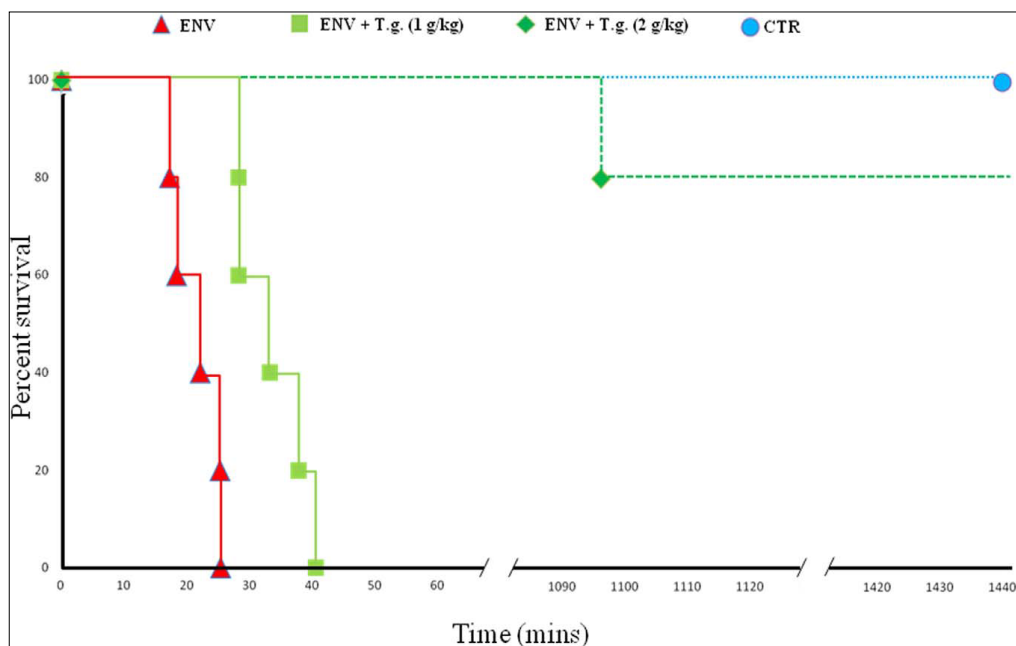


Figure 55: Résultats de test de neutralisation du venin par l'extrait des feuilles de *T. garganica*

7.2 Tests de neutralisation du venin de *B. occitanus* par l'extrait méthanolique des racines de *T. garganica*

La DL₉₉ du venin de *B. occitanus* dans tous les lots étudiés a entraîné une mortalité de 100% après 0,46 h. L'extrait méthanolique des racines de *T. garganica* a considérablement augmenté le temps de survie moyen (7,38 h) (**Figure 56**).

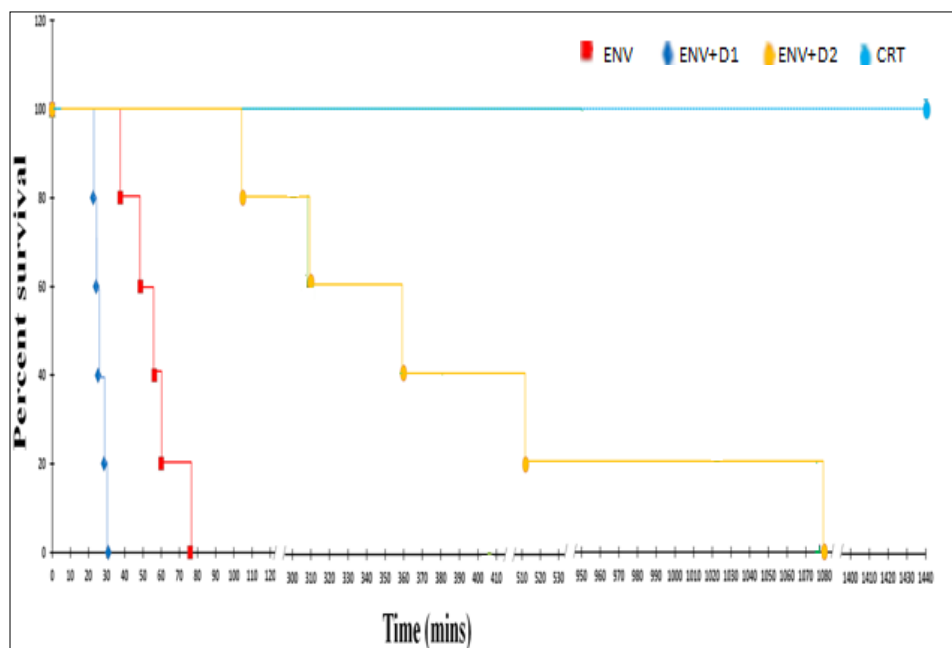


Figure 56: Résultats de test de neutralisation du venin de *B.occitanus* par l'extrait des racines de *T. garganica*

7.3 Tests de neutralisation du venin de *B. atlantis* par l'extrait méthanolique de *L. serriola*

Les souris injectées (S.C) avec du venin seul ont pu survivre seulement 34 minutes. Tandis que la neutralisation du venin de *B. atlantis* par l'administration de 0,5g/kg de l'extrait de la plante 5 min après l'injection du venin a entraîné une augmentation du temps moyen de survie de 88 min. Cependant, l'administration de l'extrait de *L. serriola* à une dose de 2 g/kg à des souris envenimées s'est avérée plus efficace en montrant un pouvoir protecteur de 66.66% et une moyenne de survie de 2952 min, et pour les animaux du groupe ayant reçu l'extrait de la plante seule et du groupe contrôle restent vivantes et ne montrent aucun signe de toxicité (**Figure 57**).

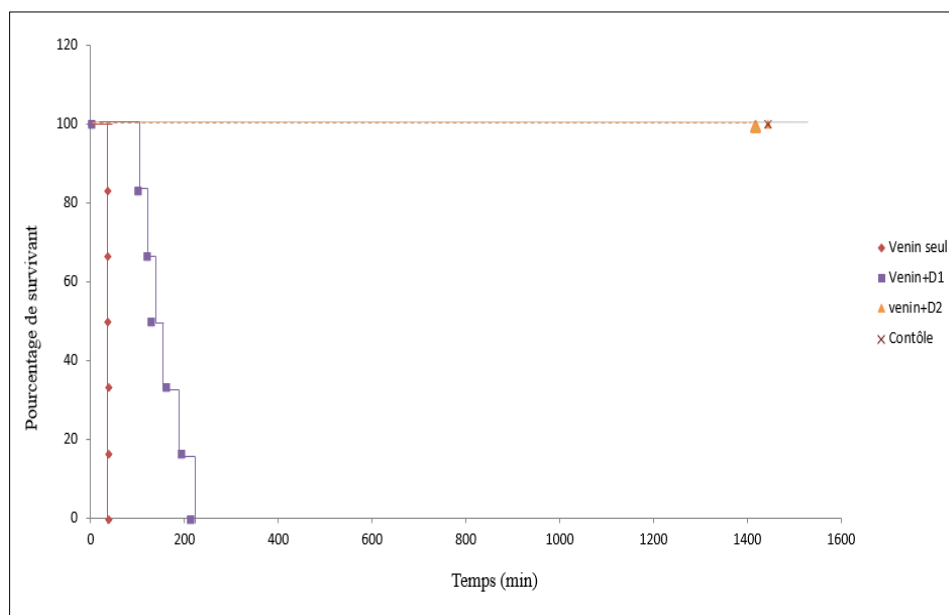


Figure 57: Résultat du test de neutralisation après injection de l'extrait méthanolique de *L. serriola* contre le venin de *B. atlantis*

Jusqu'à aujourd'hui, aucune mesure de remplacement du traitement par la sérothérapie n'est disponible, à l'exception des remèdes à base de plantes naturelles, qui montrent des attentes prometteuses (Memmi, 2007 ; Attard, 2013 ; Bouimeja *et al.*, 2018, 2019 ; Butt *et al.*, 2021, Emam et Al-Otabi, 2022).

Dans ce présent travail, nous avons étudié pour la première fois au Maroc l'activité antivenimeuse de *T. garganica* (feuilles et racines) et *L. serriola* (parties aériennes) en testant leur pouvoir neutralisant.

Les résultats obtenus montrent que le pouvoir protecteur de l'extrait des feuilles de *T. garganica* à une dose de 2g/kg est meilleur par rapport à une dose de 1g/kg. Les animaux traités par cet extrait développent quelques symptômes tels que les vomissements, les endormissements, ce qui peut témoigner l'effet sédatif de *T. garganica* (Avato et Argentieri, 2018).

Selon Benkaddour (2019), Khamadj et Dahmani (2019), elle est aussi utilisée comme moyen réulsif, c'est-à-dire que la plante permet de retenir le sang sur une partie du corps le plus souvent la peau et atténue la rapidité de la circulation et la distribution du venin dans les différents compartiments de l'organisme. Cet effet est comparé à celui du garrot qui est appliqué généralement dans les traitements traditionnels contre l'envenimation (Touloun, 2004). Selon Moujir *et al.* (2022), les feuilles étaient appliquées en cataplasme afin de calmer les

douleurs articulaires, ce qui peut être le cas lors d'une piqûre scorpionique. En plus des feuilles, on a testé aussi le pouvoir protecteur de l'extrait racinaire de la plante. Ce test a révélé une bonne protection par l'administration d'une dose de 500 mg/kg au lieu de 100 mg /kg de l'extrait.

Les chercheurs ont montré que le thapsigargine, qui est l'un des principes actifs de la plante *T. garganica* possède une activité antioxydante contre le stress rénal et cardiaque (Alyane, 2012). Par conséquent, on pourrait supposer que c'est grâce à ses propriétés antioxydantes que la plante peut contrebalancer l'intoxication venimeuse.

Notre travail indique clairement que les extraits méthanoliques des feuilles et de racines de *T. garganica* pourrait avoir une activité neutralisante contre le venin de scorpion *B. occitanus* d'une manière dose-dépendante.

Aussi, nous avons étudié l'activité antivenimeuse de la partie aérienne de la plante *L. serriola* contre le venin de *B. atlantis*. Pour ce faire, on a procédé à un test de neutralisation de sa partie aérienne, ce test a révélé une bonne protection par une dose de 2 g/kg au lieu de 0.5 g/kg de l'extrait avec un pourcentage de protection de 66,66%. Ce résultat pourrait être expliqué par la présence du lactucarium contenant de la lactucine, de la lactucine et des acides lactuciques (Ilgün *et al.*, 2020 ; Abdul-Jalil *et al.*, 2020), obtenu après évaporation du jus de la plante, qui est utilisé en médecine pour ces propriétés antispasmodique, digestif, diurétique, hypnotique, narcotique et sédatif (Alshathly et Elsharkawy, 2014 ; Qasem, 2015). Les mêmes résultats ont été observés par Jiménez-Ferrer *et al.* (2005), avec l'extrait d'hexane des racines d'*Aristolochia elegans* (50 mg/kg) sur le venin du scorpion *Centruroides limpidus*. Par ailleurs, l'effet protecteur pourrait être lié à la présence des composés phénoliques tels que les alcaloïdes, les coumarines, les saponines, les flavonoïdes et les tanins qui sont déterminés à partir d'une analyse phytochimique de l'extrait de la plante. D'après Paun *et al.* (2018) ces métabolites possèdent des activités anti-inflammatoires et antioxydantes. De plus, une analyse d'HPLC de l'extrait a révélé la présence de la quercétine, de l'acide *p*-coumarique, de l'acide chlorogénique et de plusieurs autres métabolites, qui pourraient expliquer le pouvoir neutralisant de la plante. Sachant que la quercétine est très connue par ces propriétés antioxydantes (Xu *et al.*, 2019), et l'acide *p*-coumarique par ces propriétés anti-apoptotiques qui lui permettent d'inhiber chez les rats l'infarctus du myocarde induit par l'isoprotérénol (Stanely et Abhro, 2013 ; Rafiee *et al.*, 2020) qui pourrait être utile dans le cas des envenimations scorpioniques.

8 Étude histopathologique des organes des souris traitées

8.1 Extrait des feuilles de *T.garganica*

Afin d'observer les effets tissulaires du venin, et son rétablissement par l'extrait des feuilles de *T. garganica* à la dose de 2g/kg. On a procédé à une étude histopathologique au niveau du foie, du cœur, des poumons et des reins des souris swiss.

Le **Tableau 21** représente l'intensité des symptômes d'altérations histologiques au niveau de certains organes pour chaque groupe d'animaux. La **Figure 58** illustre les altérations observées au niveau des coupes histologiques réalisées.

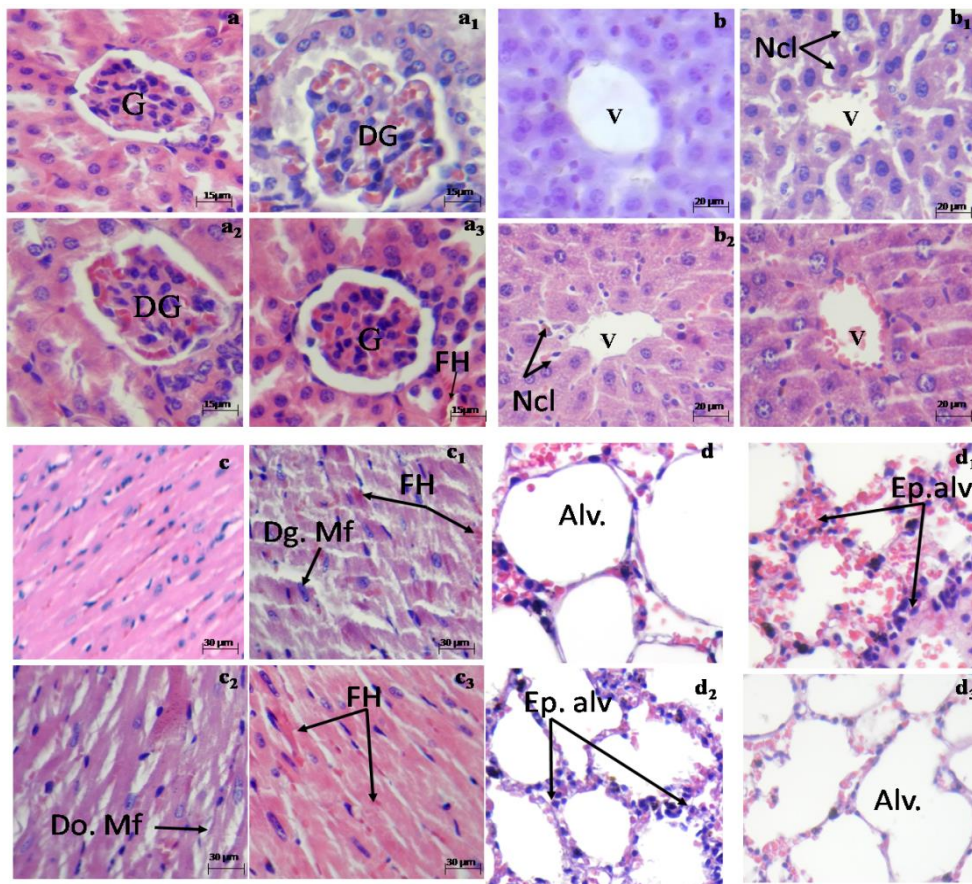


Figure 58: Coupes histologiques réalisées au niveau des différents organes (reins, foie, cœur et poumons) après 3h d'injection SC d'une dose de DL₅₀ du venin du scorpion *B.occitanus*.

a : Rein de la souris témoin ; **a₁ :** Rein d'une souris envenimée ; **a₂ :** Rein d'une souris envenimée et traitée avec 1g/kg de l'extrait des feuilles de *T. garganica* ; **a₃ :** Rein d'une souris envenimée et traitée avec 2g/kg de l'extrait des feuilles de *T. garganica* ; **b :** Foie de la souris témoin ; **b₁ :** Foie d'une souris envenimée ; **b₂ :** Foie d'une souris envenimée et traitée avec 1g/kg de l'extrait des feuilles de *T. garganica* ; **b₃ :** Foie d'une souris envenimée et traitée avec 2g/kg de l'extrait des feuilles de *T. garganica* ; **c :** Cœur du témoin ; **c₁ :** Cœur d'une souris envenimée ; **c₂ :** Cœur d'une souris envenimée et traitée avec 1g/kg de l'extrait des feuilles de *T. garganica* ; **c₃ :** cœur d'une souris envenimée et traitée avec 2g/kg de l'extrait des feuilles de *T. garganica* ; **d :** Poumons du témoin ; **d₁ :** Poumons d'une souris envenimée ; **d₂ :** Poumons

d'une souris envenimée et traitée avec 1g/kg de l'extrait des feuilles de *T. garganica* ; **d₃**:
poumons d'une souris envenimée et traitée avec 2g/kg de l'extrait des feuilles de *T. garganica*.

Tableau 21: Le degré d'apparition des symptômes observés au niveau des organes des souris envenimées et d'autres envenimées et traitées par l'extrait des feuilles de *T.garganica* d'après l'étude histologique réalisée

Traitement		Témoin	Venin	Venin+f T.G 1g/kg	Venin+f T.G 2g/kg	Plante 2g/kg
Organe	Symptômes					
Cœur						
	Hémorragies	-	+++ (50%)	++ (25%)	++ (20%)	-
	Dégénérescences des myofibrilles	-	++ (45%)	++ (40%)	+ (20%)	-
	Désorganisation des myofibrilles	-	+++ (40%)	+ (25%)	+ (10%)	-
Reins						
	Hémorragies		+++ (15%)	+ (25%)	+ (15%)	-
	Désorganisation des glomérules	-	+++ (20%)	++ (15%)	-	-
	Nécrose tubulaire	-	+++ (55%)	+ (25%)	+ (5%)	-
	Gonflement glomérulaires	-	+++ (20%)	++ (5%)	-	-
	Destruction de la capsule de Bowman.	-	+++ (75%)	+ (5%)	-	-
Foie						
	Hémorragies	-	+++ (25%)	+ (15%)	+ (5%)	-
	Nécrose Centrolobulaire	-	++ (45%)	++ (10%)	-	-
	Dégénérescence vacuolaire	-	+++ (15%)	-	-	-
Poumons						
	Hémorragies	-	+++ (45%)	++ (20%)	+ (10%)	-
	Ruptures des structures alvéolaires	-	+++ (50%)	++ (15%)	+ (5%)	-
	Epaississement des cloisons alvéolaires	-	+++ (40%)	++ (15%)	+ (5%)	-

Plante : *T. garganica* (Extrait des feuilles) ; Dose 1 = 1g/kg et Dose 2 = 2g/kg.

+++ : Sévère, ++ : Moyen, + : Minimale, - : Absent

8.2 Extrait de la racine de *T.garganica*

L'analyse histopathologique des organes vitaux (cœur, reins, foie et poumons) des souris ayant reçu une dose de DL₅₀ (0,524 mg / kg) du venin de *B. occitanus* et des souris injectées et traitées par administration orale de l'extrait méthanolique de racine de *T. garganica* (100 mg / kg et 500 mg / kg), a montré de graves altérations au niveau de tous les organes vitaux des souris injectées avec uniquement du venin. Tandis que, les souris envenimées puis traitées par l'extrait méthanolique des racines de *T. garganica* à différentes concentrations ont montré une réduction remarquable des lésions induites par le venin (**Tableau 22, Figure 59**).

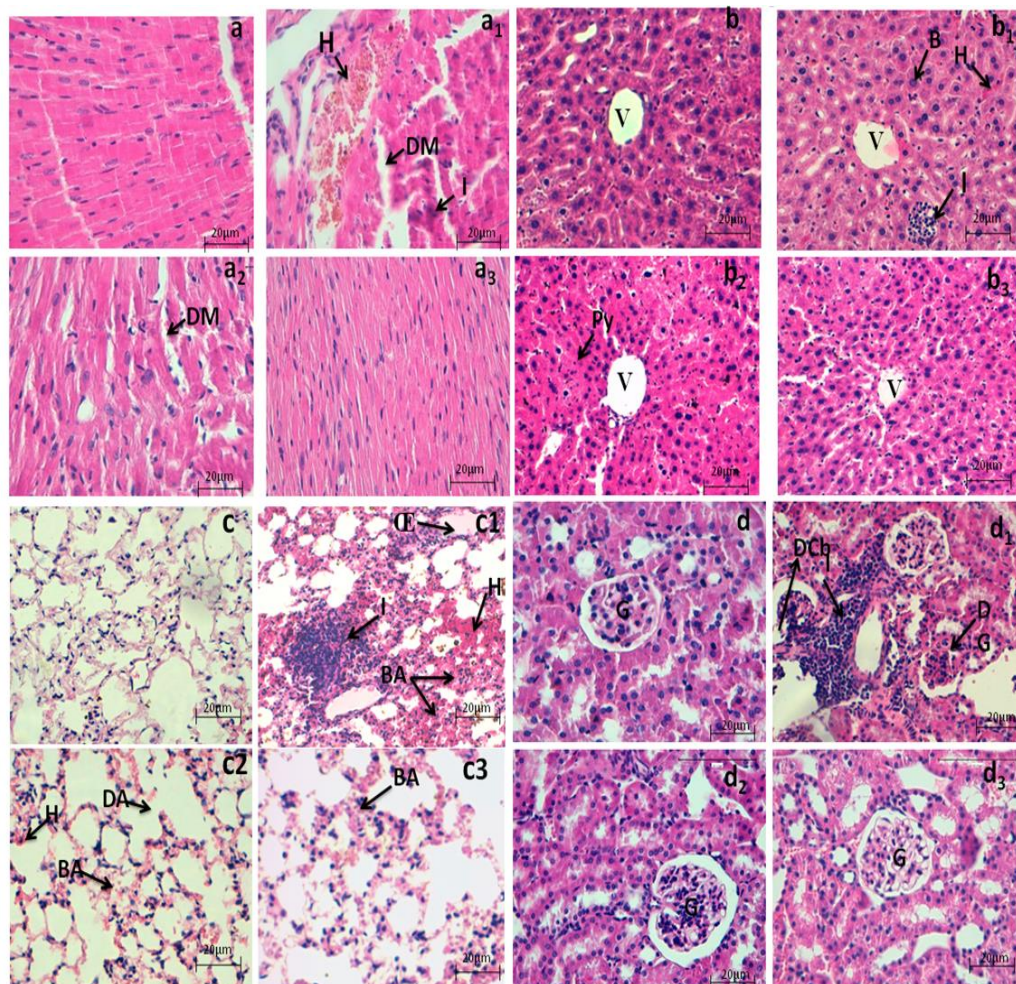


Figure 59: Coupes histologiques réalisées au niveau des différents organes reins, foie, cœur et poumons des souris après 3h d'injection SC d'une dose de DL_{50} du venin du scorpion *B. occitanus*

Tableau 22: Le degré d'apparition des symptômes observés au niveau des organes des souris envenimées et d'autres envenimées et traitées par l'extrait des racines de *T.garganica* d'après l'étude histologique réalisée

Traitement		C	V	Venin+rT.G 0,5 g/kg	Venin+rT. G 2g/kg	Plante (2g/kg)
Organes	Symptômes					
Coeur						
	Hémorragies	-	++ (45%)	+ (20%)	+ (10%)	-
	Dégénéscences des myofibrilles	-	+ (10%)	-	-	-
	Désorganisation des myofibrilles	-	+ (20%)	+ (10%)	+ (5%)	-
	œdème	-	+ (15%)	+ (10%)	-	-
	Inflammation	-	+ (10%)	-	-	-
Reins						
	Hémorragies	-	+++ (85%)	+ (10%)	+ (5%)	-
	Désorganisation des glomérules	-	+ (10%)	-	-	-
	Tubulaire nécrotique	-	+ (20%)	-	+ (10%)	-
	Gonflement glomérulaires	-	+++ (60%)	-	-	-
	Elargissement de l'espace de Bowman	-	+ (20%)	-	-	-
	Réduction de la taille de glomérule	-	+ (10%)	-	-	-
	Destruction de la capsule de Bowman	-	-	-	-	-
	Augmentation de la matrice mésangiale	-	++ (50%)	+ (20%)	-	-
	Infiltré inflammatoire	-	+ (20%)	-	-	-
	œdème	-	+ (10%)	-	-	-
Foie						
	Hémorragie	-	+++ (70%)	+ (20%)	+ (20%)	-
	Nécrose Centrolobulaire	-	-	-	-	-
	Dégénérescence vacuolaire	-	-	-	-	-
	pycnose	-	+ (10%)	+ (5%)	-	-
	karyolyse	-	+ (5%)	-	-	-
	Balloonisation des hépatocytes	-	++ (40%)	+ (20%)	-	-

	Inflammation	-	++ (50%)	-	-	-
Poumons						
	Hémorragie	-	+ (15%)	+ (10%)	+ (5%)	-
	Ruptures des structures alvéolaires	-	+ (10%)	+ (5%)	-	-
	Thickening of the partitions alveolar	-	+++ (50%)	+ (20%)	+ (10%)	-
	Présence de cellules inflammatoires	-	++ (20%)	+ (10%)	+ (10%)	-
	Dilatation des septa interalvéolaires	-	++ (20%)	+ (10%)	+ (5%)	-
	Œdème	-	++ (50%)	+ (20%)	-	-

+++ : Sévère, ++ : Moyen, + : Minime, - : Absent

Afin de confirmer les tests de neutralisation du venin et visualiser le rétablissement par l'extrait des feuilles de *T. garganica* sur certains tissus, on a étudié l'histologie des organes envenimés, et ceux traités par l'extrait des feuilles qui a présenté des meilleurs résultats concernant l'activité antivenimeuse.

Les coupes histologiques ont montré des changements par rapport au témoin qui ne présente aucune altération au niveau de tous les organes étudiés.

Au niveau rénal, nous avons observé chez le groupe envenimé une désorganisation et gonflement des glomérules avec destruction de la capsule de Bowman, désorganisation et nécroses tubulaires et la présence des hémorragies. Saidani *et al.* (2019), ont rapporté que l'injection du venin produit des changements dégénératifs dans les reins avec désorganisation des glomérules et des nécroses tubulaires.

Le venin de *B. occitanus* induit aussi des altérations histologiques au niveau des poumons qui sont traduites par un épaissement des cloisons alvéolaires et des hémorragies. Même après le traitement par l'extrait des feuilles de *T. garganica* on remarque toujours la persistance des ruptures et des épaissements des structures alvéolaires. Ces résultats sont en accord avec ceux décrits par Khemili *et al.* (2020), Emam *et al.* (2022), et qui ont montré que les poumons présentent un épaissement des parois alvéolaires et une infiltration de polynucléaires après injection d'une dose sub-létale ou d'une DL₅₀ du venin d'*A. amoreuxi*. Au niveau cardiaque, la dégénérescence des myofibrilles, les hémorragies sont bien marquées chez les souris envenimées et le traitement avec la plante a entraîné des fragmentations minimales des fibres myocardiques avec une légère hémorragie. En plus, un tel effet est soutenu par la présence de myocardite aiguë

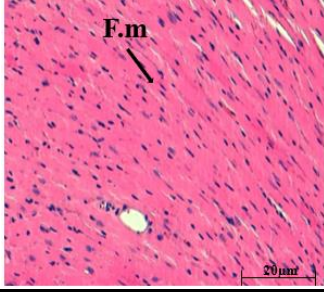
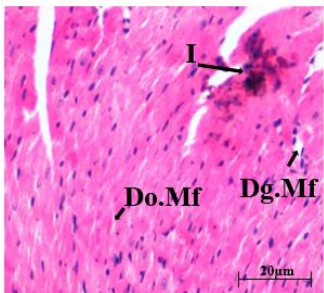
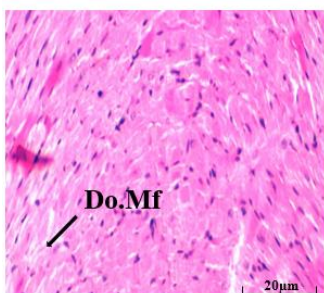
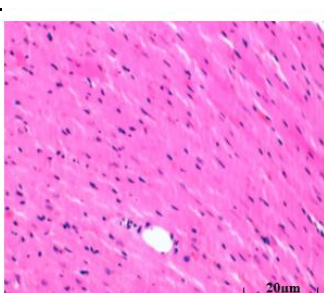
après envenimation accidentelle de certaines personnes (Yazdkhasti *et al.*, 2021). Le même effet a également été observé chez les patients piqués par le scorpion *T. serrulatus* et *Tityus trinitatis* engendrant plusieurs lésions cardiaques (Hering *et al.*, 1993 ; Daisley *et al.*, 1999).

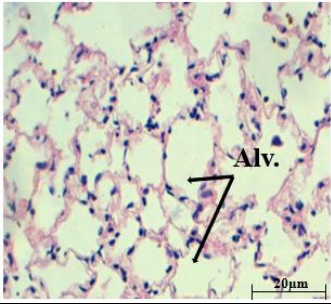
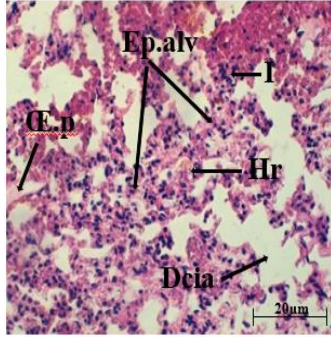
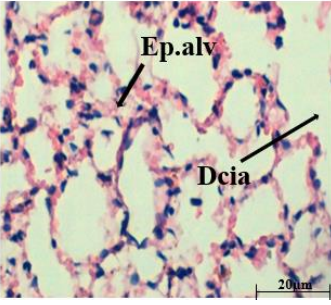
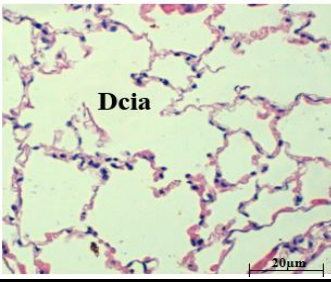
L'analyse histologique des foies prélevés des souris présentent une atteinte hépatocytaire, une nécrose tubulaire, avec présence des hémorragies. Nous avons aussi observé chez le groupe traité par les extraits de la plante une organisation architecturale moyenne par rapport au groupe témoin qui présente une organisation histologique d'un foie normal. Des résultats similaires ont été rapportés par Zangiabadi *et al.* 2020, qui ont confirmé la présence des déficiences fonctionnelles dans le foie tel que la congestion hépatique avec hémolyse après envenimation scorpionique.

8.3 Extrait des parties aériennes de *L. serriola*

Les résultats de l'analyse histologique au niveau des organes vitaux (cœur, poumons, foie et reins) de souris après envenimation expérimentale par une DL₅₀ (0,4 mg/kg) du venin de *B. atlantis*, et des souris envenimées et traité par voie orale avec l'extrait méthanolique de *L. serriola* d'une dose de 0,5g/kg et de 2g/kg, respectivement sont illustrées dans le **tableau 23**.

Tableau 23 : Coupes histologiques réalisées au niveau des différents organes (reins, foie, cœur et poumons) après 3h d'injection d'une dose de DL₅₀ du venin.

	Traitements	Signes	Aspects microscopiques
Cœur	Témoin	<p>Normal</p> <ul style="list-style-type: none"> Fibre musculaire (F.m) 	
	Envenimée	<ul style="list-style-type: none"> Dégénérescence des myofibrilles à 10% (Dg.Mf) Désorganisation des myofibrilles à 15% (Do.Mf) Infiltrat inflammatoire à 10% (I) 	
	Envenimée + 0,5g/kg de l'extrait de <i>L. serriola</i>	<ul style="list-style-type: none"> Désorganisation des myofibrilles à 5% (Do.Mf) 	
	Envenimée + 2g/kg de l'extrait de <i>L. serriola</i>	<ul style="list-style-type: none"> Aucun symptôme 	

Poumons	Témoin	<p style="text-align: center;">Normal</p> <ul style="list-style-type: none"> • Alvéole (Alv.) 	
	Envenimée	<ul style="list-style-type: none"> • Hémorragie minime(Hr) • Epaissement des cloisons alvéolaires à 60% (Ep.alv) • Infiltrat inflammatoire minime(I) • Dilatation des cloisons inter-alvéolaires à 30% (Dcia) • Œdème pulmonaire à 10% (E.p) 	
	Envenimée + 0,5g/kg de l'extrait de <i>L. serriola</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Epaissement des cloisons alvéolaires à 10% (Ep.alv) • Dilatation des cloisons inter-alvéolaires à 10% (Dcia) 	
	Envenimée + 2g/kg de l'extrait de <i>L. serriola</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dilatation des cloisons inter-alvéolaires à 10% (Dcia) 	

L'objectif de cette partie est de mettre en évidence les altérations tissulaires provoquées par le venin de *B. atlantis* ainsi que d'évaluer l'effet de l'extrait de la plante *L. serriola* sur cette envenimation. Par ailleurs, nous avons noté au niveau du tissu rénal un élargissement de l'espace de Bowman, une désorganisation glomérulaire, des hémorragies et des inflammations. En effet, des études ont montré les mêmes altérations au niveau des reins (Albuquerque *et al.*, 2018). Ces résultats sont en accord avec d'autres études, en particulier celle de Mirakabadi *et al.* (2006), après envenimation des rats par le venin d'*Odontho buthus doriae*. Les mêmes observations ont été également rapportées après envenimation des rats par le scorpion *Tityus serrulatus* (Pinto *et al.*, 2010). Ceci soutient l'idée que le venin de scorpion a une action néphrotoxique directe (Pipelzadeh *et al.*, 2006), alors que l'administration de l'extrait de la plante s'est avérée avoir un effet protecteur dans le rétablissement du tissu du rein qui pourrait être due à l'activité anti-inflammatoire de la rutine contenue dans l'extrait de la plante connue comme étant un flavonoïde (un anti-inflammatoire multifonctionnel) (Ravikumar *et al.*, 2014 ; Zhao *et al.*, 2018).

Au niveau hépatique, l'observation microscopique a révélé de nombreuses altérations telles que l'hémorragie, l'œdème, la ballonnisation et la pycnose des hépatocytes. Des résultats similaires ont été rapportés par Zangiabadi *et al.* 2020, et Darkaoui *et al.* 2022 qui ont confirmé la présence des déficiences fonctionnelles dans le foie tel que la congestion hépatique avec hémolyse après envenimation par les scorpions *Tityus discrepans* et *Androctonus mauretanicus*. Cependant, l'administration de l'extrait de *L. serriola* a montré des réductions importantes des anomalies du foie. On pourrait expliquer cette restauration du tissu hépatique par la présence de l'acide chlorogénique dans l'extrait de la plante, qui inhibe l'oxydation du mauvais cholestérol (LDL) au niveau du foie (Goetz et Le Jeune, 2011).

Nous avons aussi observé des lésions histologiques au niveau du cœur après injection de DL₅₀ du venin de *B. atlantis* chez les souris. Ces altérations se présentaient sous forme de dégénérescence et désorganisation des myofibrilles, et d'infiltrat inflammatoire. Ces résultats confirment celui d'Adaika et ses collaborateurs (2021), qui ont observé des changements dégénératifs des fibres musculaires, des zones hémorragiques et des œdèmes, après intoxication par le venin d'*Androctonus mauretanicus* chez des souris.

L'altération du tissu cardiaque a également été rapportée par plusieurs études. En fait, en 2010, Fatani a rapporté que l'injection du venin de *Leiurus quinquestriatus* produit une nécrose focale et une hémorragie interstitielle au niveau du cœur des souris envenimées. Dans certains cas,

l'œdème interstitiel, l'hémorragie, l'hypertrophie des fibres du myocarde avec érythrocyte et l'infiltration des leucocytes ont été observés avec le venin d'*Androctonus australis Hector* (Sami-Merah *et al.*, 2008).

Une défaillance cardiaque peut induire une défaillance pulmonaire. Ceci se vérifie par les différentes lésions observées au niveau des poumons des souris envenimées dans notre étude tels que l'hémorragie, l'épaississement des cloisons alvéolaires, l'infiltrat inflammatoire, la dilatation des cloisons inter-alvéolaire et l'œdème pulmonaire. Ces résultats sont en accord avec les études antérieures (Heidarpour *et al.*, 2012 ; El Hidan *et al.*, 2015a ; Aboumaâd *et al.*, 2014 ; Bouimeja *et al.*, 2018 ; Emam et Al-Otabi, 2022).

9 Analyse biochimique des marqueurs enzymatiques (ALT, AST, CPK, LDH, Urée et Créatinine)

9.1 Extrait des feuilles de *T. garganica*

Le but de cette étude est d'évaluer quelques paramètres biochimiques au niveau sanguin, afin de confirmer les effets observés au niveau histologique.

D'après la **figure 60** on note que les activités ALT, AST, CPK et LDH et le niveau de la créatinine se sont significativement élevés chez les souris envenimées par rapport au contrôle. Pour les souris envenimées et traitées par l'extrait des feuilles de *T. garganica* ont montré une diminution hautement significative des activités enzymatiques et du taux de créatinine. Les données sont rapportées sous forme de moyenne \pm SEM. Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative entre les groupes témoins et ceux traités. L'analyse biochimique des sérums issus des souris envenimées a montré une augmentation significative du taux d'AST ($p < 0,05$), d'ALT ($p < 0,05$), de CPK ($p < 0,05$), de LDH ($p < 0,05$) et de créatinine. Le niveau de ces paramètres dans le groupe traité par extrait de plante (2 g / kg) a diminué mais reste toujours plus élevé que celui des groupes témoins (**Figure 60**).

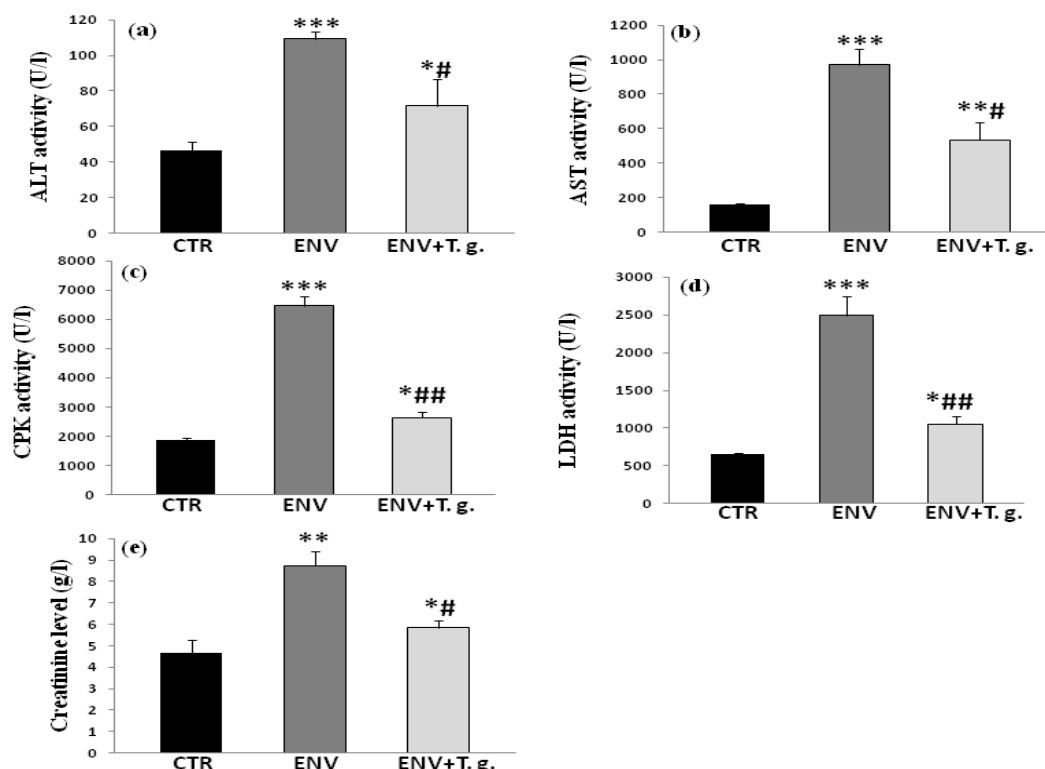


Figure 60 : Variation des activités enzymatiques et des niveaux de certains métabolites dans les sérums de souris envenimées par rapport aux souris témoins et celles traitées par les feuilles de *T. garganica*.

* : Comparaison entre le témoin et les autres groupes.

: Comparaison entre le groupe envenimé et le groupe traité par l'extrait de plante.

* : Différence significative $P < 0.05$ ** : Différence moyennement significative $P < 0.01$

***:Différence hautement significative $P < 0.001$

CTR : Groupe contrôle ; **ENV** : Groupe envenimé ; **ENV+P** : Groupe envenimé et traité par 2g/kg de l'extrait des feuilles de *T. garganica*.

9.2 Extrait des racines de *T. garganica*

L'analyse biochimique des sérums des souris envenimées a montré une augmentation significative du taux d'AST ($p < 0,05$), d'ALT ($p < 0,05$), de CPK ($p < 0,05$), de LDH ($p < 0,05$) et de créatinine. Ainsi, les activités d'ALT, d'AST, de CPK et de LDH et les niveaux de l'urée et de la créatinine se sont significativement élevés chez les souris envenimées par rapport au

contrôle. Les souris injectées avec du venin et traitées avec l'extrait méthanolique des racines de *T. garganica* ont montré une activité enzymatique et des niveaux de créatinine inférieurs à ceux obtenus chez les souris envenimées (Figure 61).

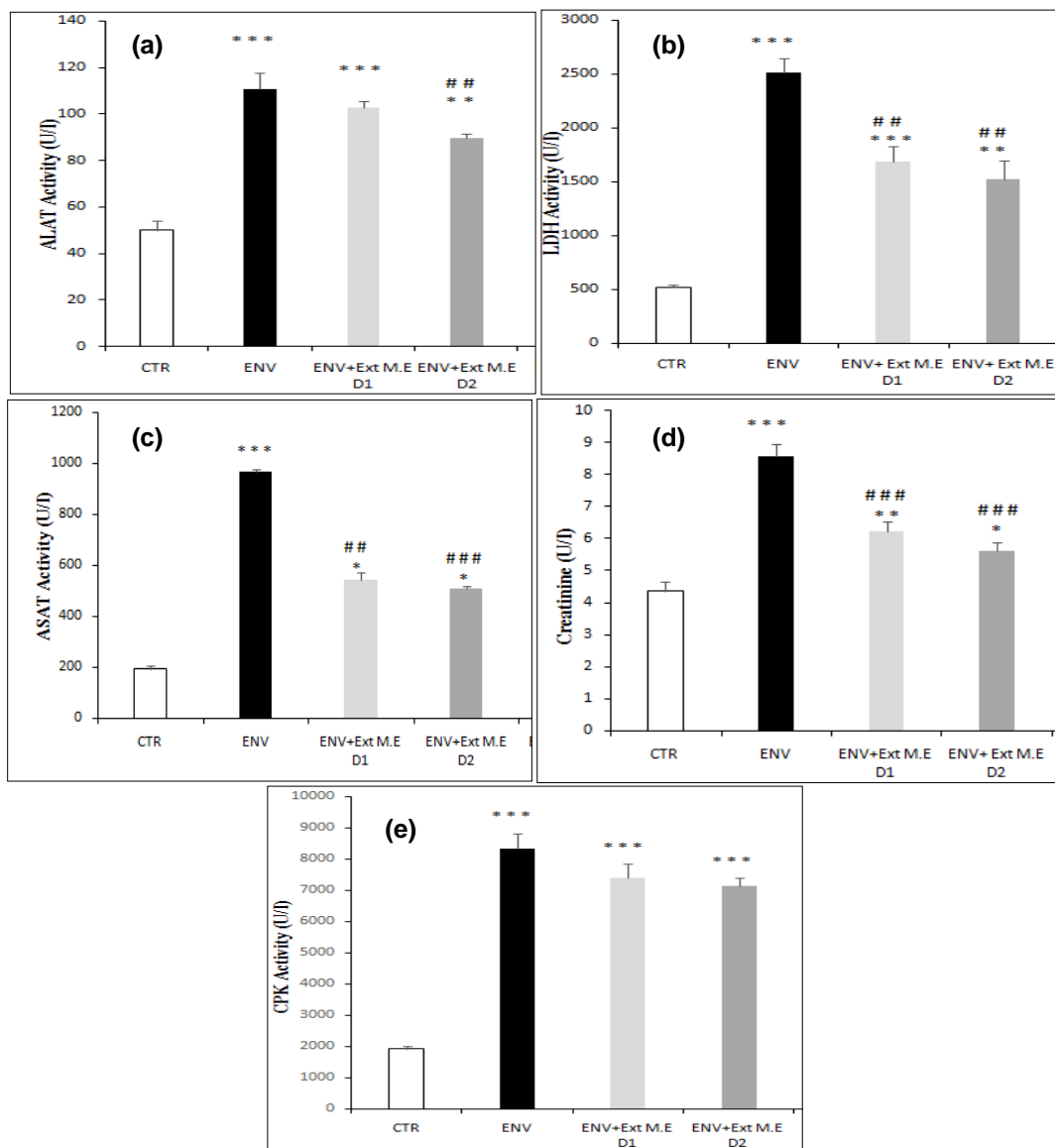


Figure 61: Variation des activités enzymatiques et des niveaux de certains métabolites dans les sérums de souris envenimés par rapport aux souris témoins et celles traitées par les racines de *T. garganica*.

Les données sont rapportées en moyenne \pm SEM. Une valeur de $p < 0,05$ est considérée comme indiquant une signification statistique entre les groupes témoins et les groupes traités.

(a) : Résultat de l'analyse d'ALAT; (b) : Résultat de l'analyse de LDH; (c) : Résultat de l'analyse d'ASAT; (d) : Résultat de l'analyse de la créatinine; (e) : Résultat de l'analyse de CPK.

9.3 Extrait des parties aériennes de *L. serriola*

Les niveaux des enzymes ALT, AST, CPK et LDH, l'activité de l'urée et de la créatinine sont significativement élevés chez les souris envenimées par rapport au contrôle (**Figure 62**). Les souris injectées avec du venin et de l'extrait des parties aériennes de *L. serriola* ont montré une diminution des activités enzymatiques et du taux de créatinine par rapport aux souris envenimées. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm S.E.M. *** $p < 0,001$ Vs. CTR; * $p < 0,05$ Vs. CTR; # $p < 0,05$ contre. ENV (ANOVA une voie suivie d'un test posthocTukey) .CTR: Contrôle, ENV: Envenimé, ENV + D1: Envenimé et traité avec l'extrait méthanolique de *L. serriola* à une dose de 0,5g / kg, ENV + D2: Envenimé et traité avec l'extrait méthanolique de *L. serriola* à une dose de 2g / kg.

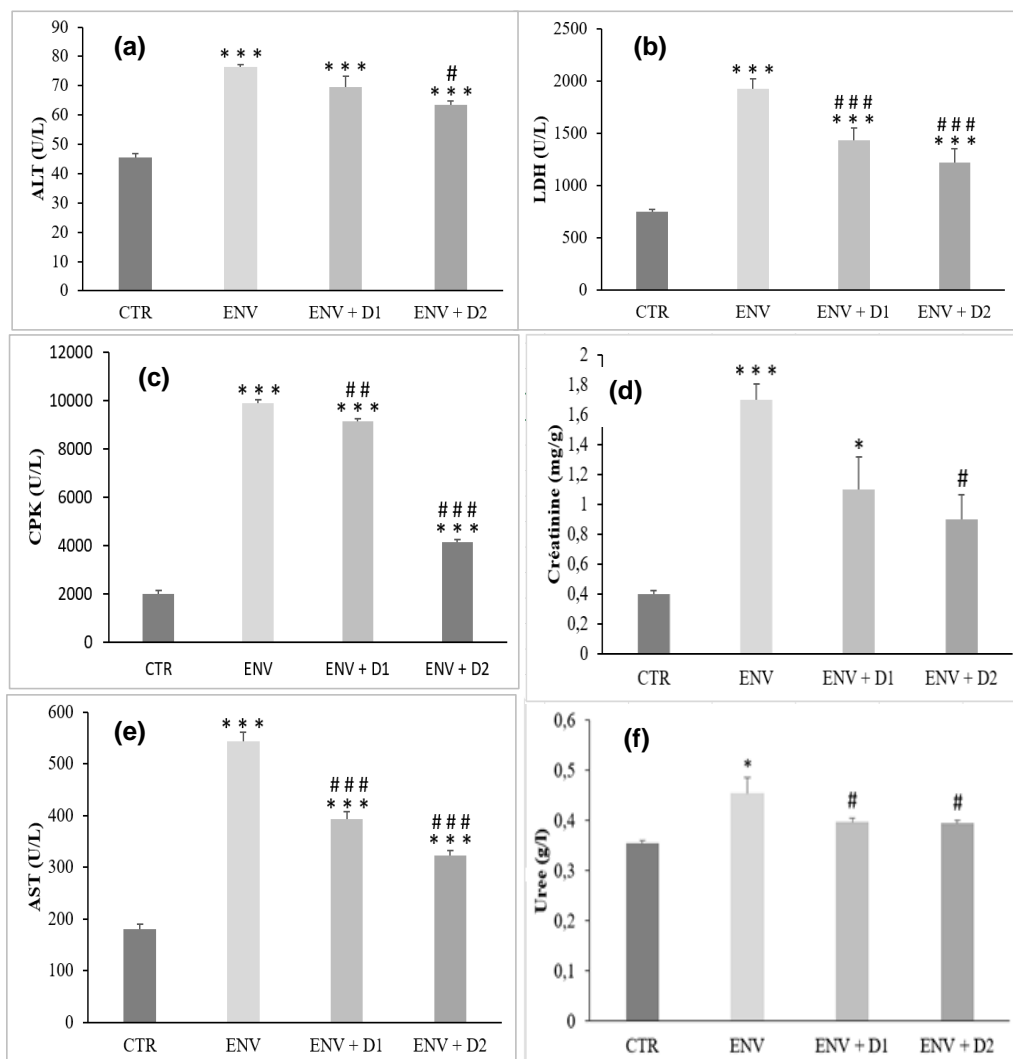


Figure 62: Variation des activités enzymatiques et des niveaux de certains métabolites dans les sérums de souris envenimées par rapport aux souris témoins et traitées par les parties aériennes de *L. serriola*.

(a): résultat de l'analyse ALT (b): résultat de l'analyse LDH; (c): résultat de l'analyse CPK; (d): résultat de l'analyse de la créatinine; (e): résultat de l'analyse AST; (f): résultat de l'analyse d'urée.

Les résultats biochimiques et histologiques obtenus ont montré que le venin des scorpions *B. occitanus* et *B. atlantis* provoque des changements pathologiques au niveau des reins, du foie, des poumons et du cœur. Les poumons étaient les plus gravement touchés par le venin. Ceci pourrait être expliqué par l'étude de Galvani *et al.*, 2017, qui a montré que le taux maximum du venin se produit en 1 heure dans les poumons, 2 heures dans le sang et 3 heures dans le cœur et le rein, ce qui a permis de montrer l'action toxique du venin sur les poumons et les reins.

Pour confirmer les lésions histologiques, l'activité enzymatique des transaminases ASAT et ALAT a montré une augmentation de ces paramètres dans le sérum. Selon la littérature, d'autres auteurs ont également trouvé le même résultat avec le venin de *Leiurus quinquestriatus* et de *Echis pyramidium* (El-missiry *et al.*, 2010 ; Mohamed *et al.*, 2011). Ainsi, les observations histologiques des reins ont montré une corrélation avec les résultats d'analyse biochimique de la créatinine dont l'augmentation signifie une lésion rénale. Dans une étude similaire, le venin du scorpion brésilien *Tityus serrulatus* a engendré des dégénérescences glomérulaires, une diminution du débit sanguin dans les reins et une réduction du niveau de filtration (De Sousa Alves *et al.*, 2005). Dans une autre étude, lors d'une envenimation scorpionique expérimentale des lapins injectés par le venin d'*Androctonus mauretanicus*, l'urée et la créatinine connues pour être de bons marqueurs biochimiques pour le dysfonctionnement rénal, dont les élévations impliquent une altération des reins (Costal-Oliveira *et al.*, 2015).

D'autre part, les lésions pulmonaires sont confirmées par l'élévation des marqueurs biochimiques (LDH et CKP) impliqués dans le dysfonctionnement des poumons et du cœur. Nos résultats sont en accord avec les études d'Oliveira Yamashita *et al.* (2020), et de Bakir *et al.* (2021), qui ont aussi montré une augmentation de ces paramètres biologiques chez des enfants suite à une envenimation scorpionique. Néanmoins, l'administration des extraits des plantes a permis la restauration des structures aussi bien au niveau des poumons que du cœur. Ce résultat pourrait s'expliquer par le pouvoir antioxydant de la quercétine présente dans les plantes qu'il exerce au niveau du tissu cardiaque (Nabavi *et al.*, 2012) et du tissu pulmonaire (Makhlouf *et al.*, 2010).

Les transaminases ALT et AST qui sont connues pour être des bons marqueurs pour le dysfonctionnement hépatique (Sifi *et al.*, 2020), ont montré une augmentation significative ($P < 0.05$) après l'envenimation scorpionique. L'augmentation de ces enzymes a été décrite dans une étude expérimentale chez la souris par l'injection du venin de scorpion *Androctonus australis* (Adi Bessalem *et al.*, 2008 ; Adaika *et al.*, 2021). Selon la littérature, le dysfonctionnement hépatique provoqué par le venin de scorpion peut être induit par l'entrée du Ca^{2+} cellulaire qui

active la phospholipase responsable de l'hydrolyse des phospholipides membranaires et par conséquent, une congestion hépatique avec hémolyse (Corrêa *et al.*, 1997). Aussi, le venin de scorpion pourrait avoir une action directe hépatotoxiques (Pipelzadeh *et al.*, 2007). L'étude histologique et biochimique nous a permis de conclure d'une part que les venins des scorpions étudiés engendrent des altérations aux niveaux des tissus et des enzymes analysées. D'autre part, l'extrait des feuilles et des racines de *T. garganica* et l'extrait des parties aérienne de *L. serriola* s'est avéré avoir un effet protecteur significatif ($P < 0.01$) dans le rétablissement de ces altérations. vu sa richesse en composés phénoliques notamment les flavonoïdes qui possède une activité antioxydante et une capacité de piégeage des radicaux libres (Mohan *et al.*, 2010).

Cependant, la neutralisation du venin de *B. atantis* observée par le biais de ces études (histologiques et biochimiques) a montré que l'extrait de la partie aérienne de *L. serriolaa* a pu rétablir plusieurs altérations tissulaire et enzymatique au niveau cardiaque, pulmonaire, rénale, et hépatique. Par conséquent, nous pouvons conclure que la richesse de l'extrait de la plante en métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les coumarines et les flavonoïdes qui sont des puissants antioxydants, seraient à l'origine de son activité antivenimeuse observée au cours de cette étude.

Conclusion

La recherche sur les substances naturelles actives extraites des plantes, participe aux efforts de conservation des plantes aromatiques et médicinales et à leur valorisation dans un but thérapeutique.

Dans le présent travail, une enquête ethnobotanique a été effectuée et a permis d'établir une base de données sur les connaissances de la flore médicinale et du savoir-faire des populations locales dans le traitement des envenimations scorpioniques. A partir de cette base de données, deux espèces de plantes ont été sélectionnées pour l'étude de leur pouvoir neutralisant contre le venin du scorpion à savoir *T. garganica* (Apiacées) et *L. serriola* (Astéracées) à travers des études phytochimiques, biologiques, histologiques et biochimiques.

L'analyse phytochimique qualitative et quantitative des extraits de ces deux plantes a mis en évidence leur richesse en polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, terpènes et stérols ce qui les rends potentiellement riches en molécules qui possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques.

L'analyse chromatographique des extraits de ces deux espèces de plantes a permis d'identifier des composés majoritaires et minoritaires. Certains composés sont présents en commun dans tous les extraits, comme la rutine, la quercétine, l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sorbique. Les composés les plus majoritaires sont le thapsigargine chez *T. garganica* et l'acide *p*-coumarique chez *L. serriola*. C'est grâce à ces composés chimiques que nos plantes pourraient contribuer à leurs propriétés antivenimeuses.

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante de ces extraits par le piégeage du radical libre DPPH, la détermination du pouvoir réducteur et l'inhibition du blanchiment de la β -carotène a montré que les trois extraits (feuilles et racines de *T. garganica* et parties aériennes de *L. serriola*) présentent des activités antiradicalaires et antioxydantes significatives par rapport aux molécules de références. Ainsi, une relation linéaire a été établie entre les extraits les plus riches en polyphénols et en flavonoïdes étant les plus forts en inhibition de l'oxydation des radicaux libres.

Les résultats des tests de toxicité aiguë et subaiguë révèlent que les extraits préparés à base des feuilles de *T. garganica* et des parties aériennes de *L. serriola* sont classées dans les catégories des plantes pratiquement non toxique ou relativement sans danger avec une DL₅₀ supérieur à 5 g/kg. Alors que, l'extrait des racines de *T. garganica* présente une DL₅₀ de l'ordre de 1.6 g/kg.

L'estimation de l'activité analgésique des extraits étudiés par l'utilisation de stimuli algogènes (acide acétique, formaldéhyde et plaque chauffante) a été mise en évidence. Les résultats obtenus montrent que nos extraits possèdent une activité analgésique périphérique en diminuant les douleurs provoquées par l'acide acétique et le formaldéhyde ainsi qu'une activité analgésique centrale en inhibant les douleurs provoquées par la plaque chauffante. Cette activité analgésique s'est avérée hautement significative par rapport aux antalgiques de référence.

Par ailleurs, l'activité anti-œdémateuse des plantes étudiées a permis de confirmer les propriétés anti-inflammatoires de leurs extraits puisqu'elles réduisent de façon significative les œdèmes des pattes des souris par comparaison à l'activité d'un anti-inflammatoire de référence, le Diclofénac. Ceci est confirmé par la disparition de l'infiltrat inflammatoire dans les coupes histologiques des organes des souris traitées par ces extraits.

Les tests de toxicité des venins des deux scorpions *B. occitanus* et *B. atlantis* ont révélés des DL₅₀ qui sont respectivement de l'ordre de 0.52 mg/kg et de 0,40 mg/kg ce qui les classe parmi les venins hautement toxiques.

Les extraits méthanoliques de *T. garganica* et *L. serriola*, injectés 5 minutes après une envenimation expérimentale des souris, semblent neutraliser la quasi-totalité de l'effet des venins des deux espèces des scorpions étudiés. Notons ainsi une bonne activité antivenimeuse de l'extrait des parties aériennes de *L. serriola* surtout avec une dose de 2 g/kg, on montrant une moyenne de survie de 2952 min.

L'étude histologique a montré que les différents organes vitaux des souris envenimées sont affectés après injection du venin des scorpions. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'analyse biochimique qui a révélée une augmentation au niveau de certaines enzymes (ALT, AST, CPK, l'urée et la créatinine). Cependant, l'administration des extraits méthanoliques de *T. garganica* et *L. serriola*, entraînent une meilleure organisation des structures tissulaires

endommagées au niveau du foie, des poumons, du cœur et des reins et une normalisation relative du taux des marqueurs biochimiques dans le sang.

A l'essor de la présente étude et en perspectives, il serait intéressant de :

- Isoler, purifier et déterminer les molécules bioactives responsables des effets observés chez les animaux dans cette étude.
- Étudier la toxicité chronique afin de s'assurer de l'absence des effets secondaires indésirables qui limiteraient l'utilisation traditionnelle de ces plantes.
- Étudier le mécanisme des actions analgésique et anti-inflammatoire des plantes étudiées.

Références bibliographiques

Abbassi, N., Hmimou, R., Lekouch, N., Rhalem, N., Soulaymani, R., Sedki, A., 2018. Méta-analyse des données des envenimations scorpioniques au Maroc. SMETOX journal, 2605-6208, (115 -122).

Abd El-Aziz F. E. A., El Shehaby, D.M., Elghazally, S.A., Hetta, H.F., 2019. Toxicological and epidemiological studies of scorpion sting cases and morphological characterization of scorpions (*Leiurusquin questriatus* and *Androctonus crassicauda*) in Luxor, Egypt. Toxicology Reports, 6, 329–335.

Abd El-Nasser S. Al Borki, Abdulhamid K. Alzerbi, Hanan F. Kabiell, Ahmad K. Hegazy., 2020. Variations in phenological and functional traits in *Thapsia garganica* populations in Al Jebel Al Akhdar, Libya, African Journal of Ecology. 58,4(639-648) <https://doi.org/10.1111/aje.12734>.

Abd ElGawad, A. M., Elshamy, A. I., El Nasser El Gendy, A., Al Rowaily, S. L., Assaeed, A. M., 2019. Preponderance of oxygenated sesquiterpenes and diterpenes in the volatile oil constituents of *Lactuca serriola* L. revealed antioxidant and allelopathic activity. Chemistry Biodiversity, 16(8), 1900278.

Abd El-Atti, M., El-Qassas, J. A., Gadel-Rab, A. G., Sarhan, M., & Desouky, M. Bioscience Research article bioscience research, 2020 17(2): 1274-1288.

Abdul-Jalil, T. Z. 2020. *Lactuca serriola*: Short Review of its Phytochemical and Pharmacological Profiles. IJDDT, 10, 3, 505-508.

Abdi, I., Lahouel, N., Lebiod, B., Hireche, S. E., 2020. Activité anti-inflammatoire d'*Aloysia citriodora* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

Aboumaâd, B., Tiger, A., Khattabi, A., Soulaymani, R., Lahssaini, M., Benhassain, S.M., 2014. Cardiac involvement and its complications about three cases of severe scorpion envenomation. Toxicon 78, 78–82.

Abroug, F., Nouira, S., El Atrous, S., 2003. A canine study of immunotherapy in scorpion envenomation. Intensive Care Med, 29, 2266-76.

Abroug, F., Ouanes-Besbes, L., Tilouche, N., & Elatrous, S. 2020. Scorpion envenomation: state of the art. Intensive care medicine, 46(3), 401-410.

Adamczak, A., Ożarowski, M., Karpiński, T. M. 2019. Antibacterial activity of some flavonoids and organic acids widely distributed in plants. Journal of clinical medicine, 9(1), 109.

Adaika, A., Medila, I., Bouali, N., 2021. Effect of the aqueous crude extract of *Matricaria pubescens*: histopathological and biochemical study on scorpion venom given rats. *Biharean Biologist*, 15(1), 64-68.

Références bibliographiques

- Adi-Bessalem, S., Hammoudi-Triki, D., Laraba-Djebari, F., 2008. Pathophysiological effects of *Androctonus australis hector* scorpion venom: tissue damages and inflammatory response. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 60(4-5), 373-380.
- Aguiar, A.P.N., Santana-Neto, P. L., Souza, J.R.B., Albuquerque, C., 2009 .Relationship between litter characteristics and female size in *Tityus stigmurus* (Scorpiones, Buthidae). 36(464-467). DOI:10.1636/CSH07-130.1.
- Ait Tastift, M., Makbal, R., Bourhim, T., Omari, Z., Isoda, H., Gadhi, C., 2022. Safety Assessment and Pain Relief Properties of Saffron from Taliouine Region (Morocco). *Molecules*, 27(10), 3339.
- Akbar, N., Sajjad, A., Rizwan, S., Munir, S., Mehmood, K., Ali, S. A., Zahid, H., 2021. Scorpion's Biodiversity and Proteinaceous Components of Venom. *international Journal of Biosciences*. 2220-6655, 2222-5234 18, 2, p. 146-162, <http://www.innspub.net>
- Akinyemi, O., Oyewole, S. O., Jimoh, K. A., 2018. Medicinal plants and sustainable human health: a review. *Horticulture International Journal*, 2(4), 194-195.
- Akroum, S., 2006. Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba* L. mémoire de magistère.
- Alam, M.I., Gomes, A., 2003. Snake venom neutralization by Indian medicinal plants (*Vitex negundo* and *Embllica officinalis*) root extracts. *Ethnopharmacology*, 86 (75–80).
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I., 2021. Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200-214.
- Al-Asmari, A., Manthiri, R.A., Abdo, N., Al-Duaiji, F.A., Khan, H.A., 2017. Saudi medicinal plants for the treatment of scorpion sting envenomation. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 24, 1204-1211.
- Alaoui, M. S. B., Satrani, B., Boussoula, E., Ghanmi, M., 2018. Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans les provinces du sahara marocain. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 24(2), 789-801.
- Alberts, M.B., Shalit, M., LoGalbo., F., 2004. Suction for venomous snakebite: a study of "mock venom" extraction in a human model. *Annals of Emergency Medicine*, 43(2),181-186. DOI: 10.1016/s0196064403008138.
- Albuquerque, P. L. M. M., Magalhaes, K. D. N., Sales, T. D. C., Paiva, J. H. H. G. L., Daher, E. D. F., Silva Junior, G. B. D., 2018. Acute kidney injury and pancreatitis due to scorpion sting: case report and literature review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 60.
- Alghazeer, R., El-Saltani, H., Saleh, N., Al-Najjar, A., Hebail, F., 2012. Antioxidant and antimicrobial properties of five medicinal Libyan plants extracts. *Natural Science*. 4, 5, 324-335. <http://dx.doi.org/10.4236/ns.2012.45045>.

Références bibliographiques

- Alilou, H., Akssira, M., 2021. Chemical composition, antibacterial, antioxidant and insecticidal activities of moroccan *Thapsia transtagana* essential oil. Saudi journal of biological sciences, 28(12), 6756-6764.
- Al-Majedy, Y. K., Ibraheem, H. H., Jassim, L. S., & Al-Amiery, A. A. (2019). Antioxidant activity of coumarine compounds. Al-Nahrain Journal of Science, 22(1), 1-8.
- Alqahtani, A.R., Badry, A., 2021 . A contribution to the scorpion fauna of Saudi Arabia, with an identification key (Arachnida: Scorpiones). Journal of King Saud University - Science. 33(4),101396.
- Al-Sadoon, M. K.,Jarrar, M. B.2003.Epidemiological study of scorpion stings in Saudi Arabia between 1993 and 1997. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. 9,1. <https://doi.org/10.1590/S1678-91992003000100003>
- Alshathly, M., El sharkawy, E., 2014. Inhibition of Ehrlich Ascites Carcinoma by *Lactuca serriola* in Swiss Albino Mice. J. Chem. Chem. Eng. 8, 66-71.
- Álvarez, A. M., Álvarez, M., Perdomo, L., & Rodríguez-Acosta, A., 2021. Clinical cardiac alterations and hemostatic toxicities caused by scorpion (*Tityus discrepans*) venom and its purified fractions on zebrafish (*Danio rerio*) larvae. Investigación Clínica, 62(4), 325-338.
- Alyane, M., Kebsa, L. B. W., Bousenane, H. N., Rouibah, H., Lahouel, M., 2008. Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 21(3).
- Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A., Khia, A., Guedira, A., Rahouti, M., Chaouch. A., 2011. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc.Phytothérapie. 9,149.
- Amor, R. L., 1986a. Incidence and growth of prickly lettuce (*Lactuca serriola* L.) in dryland crops in the Victorian Wimmera. Plant Prot. Q. 1,148–151.
- Ammor, K., Mahjoubi, F., Bousta, D., Chaqroune, A., 2020. Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of kidney stones realized in Fez-Morocco. Ethnobotany Research and Applications, 19, 1-12.
- Amina, S. S. D., 2021. Evaluation de l'activité antioxydante de quelques huiles essentielles en vue de leur utilisation comme agent naturel conservateur et aromatique (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf-M'sila).
- Aminabee, S., Rao, A. L., Sowmya, K., Nymisha, D., Lakshmi, K. K. N., Manikanta, K. V. N. S., Kumar, P. P., 2019. Evaluation of Analgesic activity of *Ficus palmata*. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences, 15(3), 47-60.
- Amr, Z.S., Abu Baker, M.A. Al-Saraireh, M., Warrell, D.A., 2021. Scorpions and scorpion sting envenoming (scorpionism) in the Arab Countries of the Middle East, Toxicon, 191(83-103).

Références bibliographiques

- Ang, L. P., Ng, P. W., Lean, Y. L., Kotra, V., Kifli, N., Goh, H. P., Ming, L. C., 2021. Herbal products containing aristolochic acids: A call to revisit the context of safety. *Journal of Herbal Medicine*, 28, 100447.
- Andary, C., Longepierre, D., Le Cong, K., Hul, S., Zaremski, A., Michaloud, G., 2019. Study of a chemotaxonomic marker able to identify the genus *Aquilaria* (Thymelaeaceae). *Bois et Forêts des Tropiques*, 341(341), 29-38.
- Antila, S., Kivikko, M., Lehtonen, L., Eha, J., Heikkilä, A., Pohjanjousi, P., & Pentikäinen, P. J. 2004. Pharmacokinetics of levosimendan and its circulating metabolites in patients with heart failure after an extended continuous infusion of levosimendan. *British journal of clinical pharmacology*, 57(4), 412–415.
- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., Koirala, N., 2019. Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96.
- Astaraki, P., Basati, G., Abbaszadeh, S., Mahmoudi, G. A., 2020. A review of medicinal plants used for snakebites and scorpion stings in Iran: A systematic review. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(3), 1565-1569.
- Avanza, M. V., Álvarez-Rivera, G., Cifuentes, A., Mendiola, J. A., Ibáñez, E., 2021. Phytochemical and functional characterization of phenolic compounds from cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) obtained by green extraction technologies. *Agronomy*, 11(1), 162.
- Avato, P., Argentieri, M., 2018. Plant biodiversity: phytochemicals and health. *Phytochemistry reviews*, 17(4), 645-656.
- Awan, A. F., Akhtar, M. S., Anjum, I., Mushtaq, M. N., Fatima, A., Mannan, A., Ali, I., 2020. Anti-oxidant and hepatoprotective effects of *Lactuca serriola* and its phytochemical screening by HPLC and FTIR analysis. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 33.
- Azza, H., 2015. Epidémiologie et facteurs pronostiques des envenimations scorpioniques. Thèse de Doctorat en Médecine. Université Cadi Ayyad. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Maroc.131 p.
- Aziz, M. A., Mehedi, M., Akter, M. I., Sajon, S. R., Mazumder, K., Rana, M. S., 2019. *In vivo* and *in silico* evaluation of analgesic activity of *Lippia alba*. *Clinical Phytoscience*, 5(1), 1-9.
- Bahekar, S., Kale, R., Nagpure, S., 2012. A review on medicinal plants used in scorpion bite treatment in India. *Mintage journal of Pharmaceutical & Medical Sciences*.1-6.
- Bahloul, M., Chabchoub, I., Chaari, A., 2010. Scorpion envenomation among children: clinical manifestations and outcome (analysis of 685 cases). *Am J Trop Med Hyg*, 83, 1084-92.
- Bahloul, M., Chaari, A., Khlaf-Bouaziz, N., Hergafi, L., Ksibi, H., Kallel, H., Chaari, A., Chelly, H., Ben Hamida, C., Rekik, N., Bouaziz, M., 2005b. Gastrointestinal manifestations in severe scorpion envenomation. *Gastroenterol Clin Biol*, 29,1001-1005.

Références bibliographiques

- Bahloul, M., Regaieg, K., Chabchoub, I., Kammoun, M., Chtara, K., Bouaziz, M., 2017. Les envenimations scorpioniques graves : physiopathologie et rôle de l'inflammation dans la défaillance multiviscérale Severe scorpion envenomation: pathophysiology and the role of inflammation in multiple organ failure. *Médecine et Santé Tropicales*. 221(27 – 214).
- Bahaoui, K., Kadri, Y., 2019. Enquête ethnobotanique et étude antimicrobienne (antifongique) de deux plantes médicinales spontanées *Citrullus colocynthis* et *Zygophyllum album* (Doctoral dissertation, Université Ahmed Draya-Adrar).
- Bakir, F., Ozkan, O., Alcgir, M. E., Yagmur, E. A., 2021. The lethality, histological, haematological and biochemical alterations in mice envenomated with *Aegaeobuthus nigrocinctus* venom. *Toxicon*, 200, 118-126.
- Blaise, K. K., Claude, K. A. L., Constant, A. A. R., Jacques, K. D., Raphael, O. K., Barthélemy, A. K., Kouamé, D. B., 2021. Criblage phytochimique, dosages des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux, et évaluation de l'activité antibactérienne des feuilles de *Turraea heterophylla* Smith (Meliaceae). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 33(2), 405-413.
- Bammi, J., Douira, A., 2002. Les plantes médicinales dans la forêt de l'Achach (plateau central, Maroc). *Acta Botanica Malacitana* 27, 131-145
- Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, EH., Ibijbijen, J., Nassiri, L., 2015. Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. 86(7)174-201.
- Bashige, V. C., Bakari, A. S., Okusa, P. N., Kalonda, E. M., Lumbu, J. B. S. 2020. Criblage phytochimique et activité antimicrobienne de six rhizomes comestibles utilisés en médecine traditionnelle à Lubumbashi (RDC). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(4), 1367-1380.
- Baudoux, D., 2009. *Aromatherapy, heal with essential oils*, first ed. Amyris. Paris.
- Bellakhdar, J., 1997. *La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires* - Saint -Etienne, Edit. Ibis Press : 764 p.
- Bellakhdar J., Claisse R., Fleurentin J. Younos C. 1991. Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. *Journal of ethnopharmacology* 35 (2), 123-143. DOI : 10.1016/0378-8741(91)90064-K.
- Benaissa, W., Assala, F., 2020. Evaluation de l'activité antivenimeuse in vivo d'*Artemisia campestris* L (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).
- Bendjabeur S., Benchabane O., Bensouici Ch., Hazzit M., Baaliouamer A., Bitam A. 2018. Antioxydant and anticholinesterase activity of essential oils and ethanol extracts of thymus algeriensis and *Teucrium polium* from Algeria. *Journal of food Measurement and Characterization* 12 (2018): 2278-2288.
- Benkaddour, M., 2019. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques chez *Thapsia garganica* L (Doctoral dissertation).

Références bibliographiques

- Bennaghmouch, L., Hajjaji, N., Zellou, A., Cherrah, Y., 2001. Etude pharmacologique d'*Ajuja iva*. Ann. Pharm. Franç, 59, (4)284.
- Benseddik, Hesna. Phytochemical & biological study of medicinal plant "*Thapsia garganica*". 2021. Thèse de doctorat. Université Mohamed Boudiaf-M'sila.
- Bergeron, Z., Bingham, J.P., 2012. Scorpion toxins specific for potassium (K_p) channels: a historical overview of peptide bioengineering. Toxins 4, 1082–1119. <https://doi.org/10.3390/toxins4111082>.
- Bergier, P., Thévenot, M., 2012. Notes naturalistes au Sahara Atlantique marocain. Go South Bull. 9, 46-125.
- Berri, Y., 2011. Etude des activités inflammatoire, analgésique, toxiques et antioxydants des extraits de *Thapsia garganica*. Université Abderrahmane Mira de Béjaia, 86 p.
- Berkal, G., Bouchama, S., 2016. Etude phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale : *Euphorbia characias* L. Mémoire de Master en Biochimie Moléculaire et Santé, Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie, PP.18-19.
- Bogdanski, P., Suliburska, J., Szulinska, M., Stepień, M., Pupek-Musialik, D., Jablecka, A. (2012). Green tea extract reduces blood pressure, inflammatory biomarkers, and oxidative stress and improves parameters associated with insulin resistance in obese, hypertensive patients. Nutr. Res, 32(6): 421-427.
- Beharav, A., Hellier, B., Richardson, K. L., Lebeda, A., Kisha, T., 2018. Genetic relationships and structured diversity of *Lactuca georgica* germplasm from Armenia and the Russian Federation among other members of *Lactuca* L., subsection *Lactuca* L., assessed by TRAP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65(7), 1963-1978.
- Behbahani, B. A., Noshad, M., Falah, F., 2019. Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. *Microbial pathogenesis*, 136, 103716.
- Bhavya, J., Francois, N., More, N.S., More, S., 2016. Scorpion toxin polypeptides as therapeutic agents: an overview. *Protein Pept. Lett.* 23, 848–859. <https://doi.org/10.2174/0929866523666160630184635>.
- Bin Asad, M.H.H., Murtaza, G., Siraj, S., Khan, S.A., Azhar, S., Hussain, M.S., Ismail, T., Hussain, M.S., Hussain, I., 2011. Enlisting the scientifically unnoticed medicinal plants of Pakistan as a source of novel therapeutic agents showing anti-venom activity. *African J. Pharm. Pharmacol.* 5, 2292–2305.
- Bouallala, M., Bradai, L., Et Abid, M., 2014. Diversité Et Utilisation Des Plantes Spontanées Du Sahara Septentrional Algérien Dans La Pharmacopée Saharienne. Cas De La Région Du Souf. *Revue Elwihat pour les recherches et les études*, 18 – 26 (1112 -7163).
- Boudehane, E., Bouchefifa, F., Desdous, N., Boutennoun, H. E., 2019. Screening phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes médicinales (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

Références bibliographiques

- Bouhadjera, K. Kebir, T. Baba-Ahmed, A. Bendahou, M. 2005. J. Bio. Sci. 8,834.
- Boushaki. B., Etude comparative de la réponse inflammatoire : Cas cliniques et expérimentaux. Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene Faculté des Sciences Biologiques, 46.
- Bouhanika, M., Kaka, Z., Zabaiou, N. E., 2019. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire et antalgique de l'extrait éthanolique de la propolis de Jijel (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- Bouimeja, B., El Hidan, M.A., Touloun, O., Ait Laaradi, M., Ait Dra, L., El Khoudrie, N., Chait, A., Boumezzough, A., 2018. Anti-scorpion venom activity of *Thapsia garganica* methanolic extract: Histopathological and biochemical evidences Journal of Ethnopharmacology. 211, 30(340-347).
- Bouimeja, B., Yetongnona, K.H., Touloun, O., Berrougui, H., Laaradia, M.A., Ouanaïmi, F., Chait, A., Boumezzough, A., 2019. Studies on antivenom activity of *Lactuca serriola* methanolic extract against *Buthus atlantis* scorpion venom by in vivo methods South African Journal of Botany. 125(270-279).
- Bouimeja, B., Boumezzough, A., Berrougui, H., Ait laaradia, M., Chait, A., Touloun, O., 2021. Evaluation of the lethal potency (LD50) of moroccan scorpion venoms of the genus *buthus*. European journal of pharmaceutical and medical research. 8(8), 31-36, 2394-3211.
- Boukef, M.K., 1986. Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne Ed, Agence de Coopération Culturelle et Technique. Médecine traditionnelle et pharmacopée France. 1- 350 pp.
- Boyer, L.V., Theodorou, A.A., Berg, R.A., Mallie, J., Chavez-Mendez, A., Garcia-Ubbelohde, W., 2009. Antivenom for critically ill children with neurotoxicity from scorpion stings. N Engl J Med. 360, 2090-8.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-254 [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Brownell, P.H., Polis, G.A., 2001. Introduction to the Scorpion Biology and Research. In «Scorpion Biology and Research», eds., Oxford Univ. Press, Oxford/NY, 3-12.
- Bruneton, J., 2009. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4e éd : Lavoisier : Paris. 1269 P.
- Bubenchikov, A., Korableva, T. V., Pozdnyakova, T. A., Kuleshova, E. S., 2020. The study of the fatty acid composition of compass lettuce (*Lactuca serriola* L.). Research Journal of Pharmacy and Technology, 13(12), 6105-6108.
- Bucarechi, F., Fernandes, L.C., Fernandes, C.B., Branco, M.M., Prado, C.C., Vieira, R.J., De Capitani, E.M., Hyslop, S., 2014. Clinical consequences of *Tityus bahiensis* and *Tityus serrulatus* scorpion stings in the region of Campinas, southeastern Brazil. Toxicon 89, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.06.022>.

- Bucaretschi, F., De Capitani, E.M., Fernandes, C.B., Santos, T.M., Zamilute, I.A.G., Hyslop, S., 2016. Fatal ischemic stroke following *Tityus serrulatus* scorpion sting in a patient with essential thrombocythemia. *Clin. Toxicol.* 54, (867–870). <https://doi.org/10.1080/15563650.2016.1204454>.
- Bush, S.P., Hegewald, K.G., Green, S.M., Cardwell, M.D., Hayes, W.K., 2000. Effects of a negative pressure venom extraction device (Extractor) on local tissue injury after artificial rattlesnake envenomation in a porcine model. *Wilderness Environ Med.* Fall;11(3),180-8. doi: 10.1580/1080-6032(2000)011[0180:eoanpv]2.3.co;2. PMID: 11055564.
- Butt, MA., Ahmad, M., Fatima, A., Sultana, S., Zafar, M., Yaseen, G., Ashraf, MA., Shinwari, ZK., Kayani, S., 2015. Ethnomedicinal uses of plants for the treatment of snake and scorpion bite in Northern Pakistan.. *J Ethnopharmacol.* 168, 164-81. doi: 10.1016/j.jep.2015.03.045.
- Butt, S. A., Tahir, H. M., Ali, S., Tariq, M., Hassan, A., Summer, M., Khan, S. Y., 2021. Evaluation of anti-scorpion (*Hottentota tamulus*) venom potential of native plants extracts using mice model. *Toxin Reviews*, 1-11.
- Boubekri, A., Ababou, M., Kartit, N., Doghmi, N., Bakkali, H., 2020. Intoxication à l' Ephedra alata (à propos d' un cas). *PAMJ-Clinical Medicine*, 3(120).
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal.Biochem.* 72, 248-254 [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Braga-Pereira, G. F., Santos, A. J., 2021. Asexual reproduction in a sexual population of the Brazilian yellow scorpion (*Tityus serrulatus*, Buthidae) as evidence of facultative parthenogenesis. *The Journal of Arachnology*, 49(2), 185-190.
- C.A.P.M., 2017. Publication officielle du Centre Anti Poison du Maroc. Ministère de la Santé Ed Société Empreintes Toxicologie Maroc 2ème trimestre, 33(14-2009).
- Cássia, R.D., Collaço, O., Hyslop, S., Dorce, V.A.C., Antunes, E., Rowan, E.G., 2019. Scorpion venom increases acetylcholine release by prolonging the duration of somatic nerve action potentials *Neuropharmacology*, 153 (41–52).
- Cechinel-Zanchett, C. C., Bolda Mariano, L. N., Boeing, T., da Costa, J. D. C., Da Silva, L. M., Bastos, J. K., de Souza, P., 2020. Diuretic and renal protective effect of kaempferol 3-O-alpha-l-rhamnoside (afzelin) in normotensive and hypertensive rats. *Journal of Natural Products*, 83(6), 1980-1989.
- Chadha A, Florentine S. Biology, Ecology, Distribution and Control of the Invasive Weed, *Lactuca serriola* L. (Wild Lettuce): A Global Review. *Plants.*, 2021; 10(10),2157. <https://doi.org/10.3390/plants10102157>.
- Chahma, A., 2006. Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Édition Dar el hoda, Ain m'lila (Algérie). P 135.
- Chani, M., Iken, M., Abouelalae, Kh., Moujahid, A., Drissi, K., 2010. Conduite à tenir devant une envenimation vipérine *Espérance Médicale*; Tome, 17-170.

- Charnot, A., 1945. La toxicologie au Maroc. Mémoire de la Soc. Sci. Nat. du Maroc, Rabat, n° XLVII, nov. p 826. Grieve, 1971.
- Chaves, N., Santiago, A., Alías, J. C., 2020. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*, 9(1), 76.
- Chedea, V. S., Pop, R. M., 2019. Total polyphenols content and antioxidant DPPH assays on biological samples. In *Polyphenols in Plants* pp: 169-183. Academic Press.
- Chehma, A., Djebar, M.R., 2008. Les espèces médicinales spontanées du sahara septentrional algérien: distribution spatitemporelle et étude ethnobotanique. *Revue synthèse*, (17), 94- 99.
- Chiariello, T.M., 2017. Veterinary care of scorpions. *J. Exot. Pet Med.* 26, 114–122. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2017.01.030>.
- Chippaux, J.P., 2002. Venins de serpent et envenimations. IRD Éditions 2-7099-1507-3 Fournie/Toulouse France Paris, 1142-2580 p.
- Chippaux, J.P., Goyffon, M., 2008. Epidemiology of scorpionism: a global appraisal. *Acta Trop*, 107, 71–9.
- Chippaux, J.P., 2009. Incidence mondiale et prise en charge des envenimations ophidiennes et scorpioniques Global incidence of snake and scorpion envenoming. *Med Sci (Paris)*, 25, 197–200
- Chippaux, J.P., 2012. Emerging options for the management of scorpion stings. *Drug Design, Development and Therapy*, 6, 165-73.
- Chippaux, J.P., 2016. Prise en charge des piqûres de scorpion en Afrique et au Moyen-Orient. *Médecine et Santé Tropicales*, 26, 130-133.
- Ciumărnean, L., Milaciu, M. V., Runcan, O., Vesa, Ș. C., Răchișan, A. L., Negrean, V., Dogaru, G., 2020. The effects of flavonoids in cardiovascular diseases. *Molecules*, 25(18), 4320.
- Cupo, P., Figueiredo, A.B., Filho, A.P., Pintya, A O., Tavares Júnior, G.A., Caligaris, F., Marin-Neto, T.A., Hering, S.E., Simões, M.V., 2007. Acute left ventricular dysfunction of severe scorpion envenomation is related to myocardial perfusion disturbance. *International Journal of Cardiology*, 116, 98-106.
- C.A.P.M., 2017. Publication officielle du Centre Anti Poison du Maroc. Ministère de la Santé Ed Société Empreintes Toxicologie Maroc 2ème trimestre, 33, 14-2009.
- Charrab, N., Soulaymani Bencheikh, R., Mokhtari, A., Semlali, I., El Oufir, R. & Soulaymani, A., 2009. Situation épidémiologique des envenimations scorpioniques dans la province de Beni Mellal. *Santé Publique*, 21, 393-401. <https://doi.org/10.3917/spub.094.0393>.
- Chraïbi, M., Fikri-Benbrahim, K., Amrani, M., Farah, A., Bari, A., & Benziane Ouaritini, Z., 2018. Etude ethnobotanique sur l'utilisation de *Mentha pulegium*, *Mentha piperita* et *Pelargonium graveolens* au nord du Maroc (Taounate) et évaluation de leur pouvoir antimicrobien. *European Scientific Journal*, 14(24), 113-133.

Références bibliographiques

- Chgoury, F., Oukkache, N., N. H., Benomar, Saile, R., Ghalim, N., 2011. Etude toxicocinétique et biologique du venin de scorpion *Androctonus mauretanicus* chez le lapin.
- Carter, R. N., Prince, S. D., 1985. The geographical distribution of prickly lettuce (*Lactuca serriola*). I. A general survey of its habitats and performance in Britain. *J. Ecol.* 73, 27–38.
- Colalto, C., 2018. What phytotherapy needs: Evidence based guidelines for better clinical practice. *Phytotherapy research*, 32(3), 413-425.
- Corrêa, A. L., Oliveira, A. P., Ruppelt, B. M., de Araújo, E. R. D. A., Santos, M. G., Caldas, G. R., Rocha, L., 2019. Protective effect of *Myrsine parvifolia* plant extract against the inflammatory process induced by *Bothrops jararaca* snake venom. *Toxicon*, 157, 66-76.
- Correa, M. M., Sampaio, S. V., Lopes, R. A., Mancuso, L. C., Cunha, O. A. B., Franco, J. J., & Giglio, J. R., 1997. Biochemical and histopathological alterations induced in rats by *Tityus serrulatus* scorpion venom and its major neurotoxin tityustoxin-I. *Toxicon*, 35(7), 1053-1067.
- Costal-Oliveira, F., Guerra-Duarte, C., Castro, K. L. P., Tintaya, B., Bonilla, C., Silva, W.,Chávez-Olórtegui, C., 2015. Serological, biochemical and enzymatic alterations in rodents after experimental envenomation with *Hadruroides lunatus* scorpion venom. *Toxicon*, 103, 129-134.
- Coulibaly, A. C., Kabre, W. E. B., Traore, T. K., Achatde, C., Boly, G. L., Nebie, M. T., Sawadogo, R. W., 2020. Phytochemical screening, anti-inflammatory and analgesic activities of root barks from *Acacia macrostachya* Reichenb. Ex DC.(Fabaceae). *Annual Research Review in Biology*, 76-83.
- Cuq, J. L., 2007. *La Chromatographie Liquide*, Université Montpellier. 2,13-14.
- Dahmoune-akkouche, A., 2021. Recherche de composés bioactifs à partir de plantes médicinales issues de la biodiversité algérienne (Doctoral dissertation, universite mouloud mammri, faculte de medecine tizi-ouzou).
- Darkaoui, B., Lafnoune, A., Chgoury, F., Daoudi, K., Chakir, S., Mounaji, K., Naoual, O. 2022. Induced pathophysiological alterations by the venoms of the most dangerous Moroccan scorpions *Androctonus mauretanicus* and *Buthus occitanus*: A comparative pathophysiological and toxic-symptoms study. *Human & Experimental Toxicology*, 41, 09603271211072872.
- Das, S., Badhe, B., Shaha, K.K., Manickam, N., Manigandan, G., 2013. Fatal scorpion envenomation: report of two cases, *J. Indian Acad. Forensic Med.*, 35 (404–407).
- De Miranda, G.F., Vilar, J.C., Alves, I.A., Cavalcanti S.C., Antonioli, A.R., 2001. Antinociceptive and antiedematogenic properties and acute toxicity of *Tabebuia avellendae* Lor. ex Griseb. inner barkaqueous extract. *BMC Pharmacol*, 6 10.1186/1471-2210-1-6.
- Deng, J., Han, J., Chen, J., Zhang, Y., Huang, Q., Wang, Y., Lu, L., 2021. Comparison of analgesic activities of aconitine in different mice pain models. *Plos one*, 16(4), e0249276.

Références bibliographiques

- De Roodt, A. R., Lanari, L. C., Laskowicz, R. D., de Oliveira, V. C., Litwin, S., Calderon, L., Lértora, E., 2019. Study on the obtaining of *Tityus trivittatus* venom in Argentina. *Toxicon*, 159, 5-13.
- De la Vega, R. C. R., et Possani, L. D., 2005. Overview of scorpion toxins specific for Na⁺ channels and related peptides: biodiversity, structure–function relationships and evolution. *Toxicon*, 46(8), 831-844.
- de Sousa Alves, R., do Nascimento, N. R. F., Barbosa, P. S. F., Kerntopf, M. R., Lessa, L. M. A., De Sousa, C. M., Monteiro, H. S. A., 2005. Renal effects and vascular reactivity induced by *Tityus serrulatus* venom. *Toxicon*, 46(3), 271-276.
- Dias, M. C., Pinto, D. C., Silva, A., 2021. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 26(17), 5377.
- Daisley, H., Alexander, D., Pitt-Miller, P., 1999. Acute myocarditis following *Tityus trinitatis* envenoming: morphological and pathophysiological characteristics. *Toxicon*, 37(1), 159-165.
- Diaz-García, A., Varela, D., 2021. Voltage-Gated K⁺/Na⁺ Channels and Scorpion Venom Toxins in Cancer. *Ion Channel Signalling in Cancer: From Molecular Mechanisms to Therapeutics*.
- Ding, J., Wang, L., He, C., Zhao, J., Si, L., Huang, H., 2021. *Artemisia scoparia*: Traditional uses, active constituents and pharmacological effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 273, 113960.
- Direction générale des collectivités locales., 2015. La région de Béni Mellal-Khénifra Royaume Du Maroc. Monographie Generale.
- Djahida, A., Houcine, B., 2021. Phytochemical Content, Antioxidant and Antimicrobial Effects of *Thapsia garganica* L. Leaves and Roots Grown Wild in Northwest Algeria. *Indian Journal of Agricultural Research*, 55(5), 519-526.
- Djarroumi, A., Nacef, M., 2004. 100 plantes médicinales d'Algérie. p159.
- Djilani, S., Sadine, S. E., Kerboua, K. E., 2020. Antiscorpionic Serotherapy: Clinical Efficacy, Preclinical Aspects, and Prospects for Future Nanotherapy. *Algerian Journal of Health Sciences*, 2(2), 112-117.
- Dobignard, A., Chatelain, C., 2010. Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du Nord. vol. 1, 2, 3, vol. 4 & 5 in prep.
- Dorrigiv, M., Zareiyan, A., Hosseinzadeh, H., 2020. Garlic (*Allium sativum*) as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities: A comprehensive update review. *phytotherapy research*, 34, 8 (1770-1797).
- Dousset, E., Carrega, L., Steinberg, J. G., Clot-Faybesse, O., Jouirou, B., Sauze, N., Devaux, C., Autier, Y., James, Y., Martin-Eauclaire, M.F., Guieu, R., 2005. Evidence that free radical generation occurs during scorpion envenomation. *Comp Biochem Phys C*, 140(2), 221-226.

- Drevelegka, I., Goula, A. M., 2020. Recovery of grape pomace phenolic compounds through optimized extraction and adsorption processes. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 149, 107845.
- Dufour-Gaume, F., Milleliri, J. M., 2018. Prise en charge des envenimations scorpioniques au poste médical de Faya-Largeau de février à juin 2014. *Médecine et Santé Tropicales*, 28(2), 150-153.
- Dupre, G., 2010. Nouvelles espèces de scorpions (Arachnida, Scorpiones) décrites en 2010. *Arachnides*, 58: 2-7.
- Dupre, G., 2013. New synthesis on plants used to treat scorpion stings. *Am. J. PharmTech Res.* 3 (1), 175–225.
- Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., Ma, H., 2020. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. *Food Bioscience*, 35, 100547.
- El-Aziz, A., Kasem, S. M., Ebrahim, N. E., 2022. Evaluation of The Toxicity of Scorpion Venom and Digoxin on Human Cardiovascular System and in Decomposition Arthropods Succession Using Rat Carriers. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, B. Zoology*, 14(1), 1-16.
- Ebrahimi, V., Hamdami, E., Moemenbellah-Fard, M.D., Jahromi, S.E., 2017. Predictive determinants of scorpion stings in a tropical zone of south Iran: use of mixed seasonal autoregressive moving average model. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis*, 23 (39).
- El Hafny, B., Chgoury, F., Adil, N., Cohen, N., Hassar, M. 2002. Intraspecific variability and pharmacokinetic characteristics of *Androctonus mauretanicus mauretanicus* scorpion venom. *Toxicon*, 40(11), 1609-1616.
- Elansary, H. O., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., El-Ansary, D. O., Al-Mana, F., Mahmoud, E. A., 2020. Polyphenol content and biological activities of *Ruta graveolens* L. and *Artemisia abrotanum* L. in northern Saudi Arabia. *Processes*, 8(5), 531.
- Elfiky, A. A., Attia, H. R., Abd ELaziz, M. R., 2019. Cross neutralization of some kinds of scorpion venoms from Africa and South East using VACSERA Polyvalent Scorpion Antisera. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 49(2), 443-449.
- El Haouari, M., El Makaoui, S., Jnah, M., Haddaouy, A., 2018. A survey of medicinal plants used by herbalists in Taza (Northern Morocco) to manage various ailments. *J. Mater. Environ. Sci.* 9 (6), 1875-1888.
- El Hidan, M.A., Touloun, O., El Hiba, O., Chait, A., Hafid, J.E., Boumezzough, A. 2015. Behavioral, histopathological and biochemical impairments observed in mice envenomed by the scorpion. *Toxicon*, 103, 19-29.
- El Hidan, M.A., Touloun, O., El Hiba, O., Laadraoui, J., Ferehan, H., Boumezzough, A. *Toxicon*. 2016. Peripheral and central effects of intracerebroventricular microinjection of *Hottentottagentili* (Pallary, 1924) (Scorpiones, Buthidae) venom. *Toxicon*, 111, 22-30. doi: 10.1016/j.toxicon.2015.12.010. Epub 2015 Dec 22. PMID: 26718260.

Références bibliographiques

- El Hidan, M. A., Touloun, O., Bouazza, A., Laaradia, M. A., Boumezzough, A., 2018. *Androctonus* genus species in arid regions: Ecological niche models, geographical distributions, and envenomation risk. *Veterinary world*, 11(3), 286.
- El Moussaoui, A., Jawhari, F. Z., Almehdi, A. M., Elmsellem, H., Benbrahim, K. F., Bousta, D., Bari, A., 2019. Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of total polyphenols of *Withania frutescens*. L. *Bioorganic Chemistry*, 93, 103337.
- El-Missiry, A. G., Shaban, E. A., Mohamed, M. R., Ahmed, A. A., Abdallah, N. M., Moustafa, M. I., 2010. Influence of ionizing radiation on *Echis pyramidium* snake venom: biochemical and immunological aspects. *The Egyptian journal of hospital medicine*, 40(1), 314-334.
- Ehma, A., 2021. Trends in scorpion diversity and richness in Morocco. *Uttar Pradesh Journal Of Zoology*, 42(12), 1-7.
- El Oufir, R., Rhalem, N., Hmimou, R., Semlali, I., Benlarabi, S., SoulaymaniBencheikh R., 2017. Les piqûres et les envenimations scorpioniques au maroc 1999-2017. Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc – Toxicologie - N° 33 - 2ème trimestre.
- El Rhaffari, L., Zaid, A., 2002. Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. IRD, édition, 293-318p.
- EL Rhaffari, L. Zaid, A. EL Alami, F., 2017. Valorization and protection of the flora used intraditional medicine in Tafilalet and the surrounding area, *Minbar Al Jamiâa.*, 1(1999), pp.183- 189 Centre Anti Poison et Pharmacovigilance du Maroc Publication officielle du CAPM. N° 33 - 2ème trimestre.
- EL yassir, F.E., 2013. Envenimations chez l'enfant par morsure de serpent et piqûre de scorpion. Université mohammed v – souissi faculte de medecine et de pharmacie –rabat: thèse n°: 150.
- Elatrous, S., Besbes-Ouanes, L., Fekih, H.M., Ayed, S., Abroug, F., 2008. Les envenimations scorpioniques graves. *Med Trop*, 68, 359-366.
- El-Sebakhy, N., Waterman, P.G., 1984. (R,R)-70-O-methylcuspidaline from the leaves of *Aristolochia elegans*. *Phytochemistry*, 23, 2706–2707.
- Emam, N. M., Al-Otabi, A. M., 2022. Protective Effects of *Ambrosia maritima* and *Allium sativum* Plant Extracts on Different Tissues of Envenomed mice with *Leiurus quinquestriatus* Scorpion Venom. *Journal of Bioscience and Applied Research*, 8(1), 57-76.
- Emberger, L., Maire, R., 1941. Catalogue des plantes du Maroc (Spermatocytes et Ptéridophytes). Tome IV, supplément aux volumes I, II, et III. Alger, Minerva, et Mém. h. s. Soc. Nat. Maroc. 915-1181.
- Enechi, O. C., Okeke, E. S., Awoh, O. E., Okoye, C. O., Odo, C. K., 2021. Inhibition of phospholipase A2, platelet aggregation and egg albumin induced rat paw oedema as anti-inflammatory effect of *Peltophoron pterocarpus* stem-bark. *Clinical Phytoscience*, 7(1), 1-8.

- Fakchich, J., Elachouri, M., 2014. Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *J. Ethnopharmacol.* 154 (1), 76-87.
- Farah, H., Ech-chahad, A., Lamiri, A., 2014. Antioxidant, Antimicrobial and Phytochemical Investigations of Polar Extracts of *Euphorbia resinifera* Beg. Roots, Stems and Flowers. *American Journal of Advanced Drug Delivery*, 6, 776-785.
- Fatah, N. H. A., Amen, Y., Bar, F. M. A., Halim, A. F., Saad, H. E. A., 2020. Antioxidants and α -glucosidase Inhibitors from *Lactuca serriola* L. *Rec. Nat. Prod*, 14, 410-415.
- Fennane, M., Ibn Tattou, M., El Oualidi, J., 2014. Flore pratique du Maroc : Manuel de détermination des plantes vasculaires. Travaux de l'institut scientifique, Série botanique. 40, 3-793.
- Ferchichi, A., Chaieb, C., Ferjani, E., 2004. Caractérisation de la variabilité du comportement phycologique de certaines populations d'*Artemisia herba-alba* du sud Tunisien. *Ciheamiamz*, (Cahiers Option Méditerranéennes).62, 489.
- Fernández, J., Silván, B., Entrialgo-Cadierno, R., Villar, C. J., Capasso, R., Uranga, J. A., Abalo, R., 2021. Antiproliferative and palliative activity of flavonoids in colorectal cancer. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143, 112241
- Finney, D.J., 1971. Probitanalysis. 3th ed. Cambridge University Press. IBSN. P 333.
- Fischer, F. G., Bohn, H., 1957. Venoms of the Brazilian scorpions *Tityus serrulatus* and *Tityus bahiensis*. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 5, 306(4-6); 269-72.
- Fitri, K., Khairani, T. N., Sianturi, K. T., Leny, L., Hafiz, I., 2021. Anti-inflammatory Activity of Ethanol Extract of Lotus (*Nelumbo nucifera* G.) Seed Against White Male Rats Using Paw Edema Method. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 11(4), 1-4.
- Furtado, A.A., Silva, A.D., Silva-Júnior, A.A., Fernandes-Pedrosa, M. F., 2020. Biology, venom composition, and scorpionism induced by brazilian scorpion *Tityus stigmurus* (Thorell, 1876) (Scorpiones: Buthidae): A mini-review. *Toxicon*, 185 (36-45).
- Fuzita, F.J., Pinkse, M.W.H., Patane, J.S.L., Juliano, M. a, Verhaert, P.D.E.M., Lopes, A. R., 2015. Biochemical, transcriptomic and proteomic analyses of digestion in the scorpion *Tityus serrulatus*: insights into function and evolution of digestion in an ancient arthropod. *PloS One* 10, 1–31. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123841>.
- G.R.I.P.T., 2001. Groupe de recherche et d'information sur la pharmacopée et environnement tropical Association Loi 1901 : Revue de Médecines et pharmacopées Africaines, 15.
- Gaffin, D.D., Bumm, L.A., Taylor, M.S., Popokina, N.V., Mann, S., 2012. Scorpion fluorescence and reaction to light. *Animal Behaviour*, 84, 737.
- Gahéry, Y., 2021. Les Arthropodes et l'intelligence des Insectes sociaux. In *L'histoire du cerveau* (pp. 179-212). EDP Sciences.
- Gao, B., Dalziel J., Tanzi S., Zhu S., 2018. Meucin 49, a multifunctional scorpion venom peptide with bactericidal synergy with neurotoxins. *Amino acids*.50(8):1025-43. Epub 2018/05/18.

Références bibliographiques

- Girard, M., Bee, G., 2020. Invited review: Tannins as a potential alternative to antibiotics to prevent coliform diarrhea in weaned pigs. *Animal*, 14(1), 95-107.
- Giresha, A. S., 2021. Secretory phospholipase A2 Group IIA: A Potential Therapeutic Target in Inflammation. *Current Research and Trends in Medical Science and Technology*, 34.
- Gérard, D., 2009. L'encyclopédie des plantes bio-indicatrices alimentaires et médicinales, éditions Promonature, 3 volumes, Briant.
- Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., Mouloud, Y., 2014. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*. 12(15–24).
- Gonçalves, J.C.R., Oliveira, S. F., Benedito, B.R., Sousa, P.D., Almeida, N.R., Araújo, M.A. D., 2008. Antinociceptive activity of (-)-carvone: evidence of association with decreased peripheral nerve excitability, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 31, 5(1017–1020).
- González-Ballesteros, N., Rodríguez-Argüelles, M. C., Lastra-Valdor, M., González-Mediero, G., Rey-Cao, S., Grimaldi, M., Bigi, F., 2020. Synthesis of silver and gold nanoparticles by *Sargassum muticum* biomolecules and evaluation of their antioxidant activity and antibacterial properties. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 10(4), 317-330.
- Gomez Rave, L. J., Munoz Bravo, A. X., Sierra Castrillo, J., Roman Marin, L. M., Corredor Pereira, C., 2019. Scorpion venom: New promise in the treatment of cancer. *Acta biológica colombiana*, 24(2), 213-223.
- Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J., 2019. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 241-272.
- Goyffon, M., ElAyeb, M., 2002. Epidémiologie du scorpionisme. *Infotox*. 15, 2-6.
- Goyffon, M., 1983. Panchronisme et resistance aux agressions de l'environnement chez les scorpions. *Bull. Soc. Zool. Fr.* 108, 585–592.
- Goyffon, M., 2002. Le scorpionisme. *Rev Fr Lab*. 342, 41–48.
- Goyffon, M., 2009. Venins et de fensines des scorpions ,association d'anciens élève de l'institut Pasteur- 2ème Trim, 51(2), 199.
- Goyffon, M., Tournier, J.N., 2014. Scorpions: A Presentation. *Toxins*. 6, 2137-2148. doi:10.3390/toxins6072137.
- Grassé, P., 1949. *Traité Zoologie, Ordre des scorpions*, Edit Muséum National d'Historique Naturelle. Paris, tome 6, 386-436.
- Grayer, R.J., Chase, M.W., Simmonds, M.S.J., 1999. A comparison between chemical and molecular characters for the determination of phylogenetic relationships among plant families: an appreciation of Hegnauer's "Chemotaxonomie der Pflanzen". *Biochem. Syst. Ecol.* 27, 369–393.

- Grubben, G.J.H., Sukprakarn, S., 1993. *Lactuca sativa* L. In: Siemonsma, J.S. & Kasem Piluek (Editors). Plant Resources of South-East Asia No 8. Vegetables. Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, Netherlands. pp. 186–190.
- Grossmann, L., Ebert, S., Hinrichs, J., Weiss, J., 2018. Effect of precipitation, lyophilization, and organic solvent extraction on preparation of protein-rich powders from the microalgae *Chlorella protothecoides*. *Algal research*, 29, 266-276.
- Habibulla, M., .2016. The Secretive Life of the Amazing 'Living Fossil' Scorpion. *Grupo Ibérico de aracnología (s.e.a.)*. 82(978), 474-480. <http://www.sea-entomologia.org>
- Hachi, M., Hachi, T., Belahbib, N., Dahmani, J., Zidane, L., 2015. Contribution a l'etude floristique et ethnobotanique de la flore medicinale utilisee au niveau de la ville de Khenifra (Maroc)/[contribution to the study and floristic ethnobotany flora medicinal use at the city of Khenifra (Morocco)]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 11(3), 754.
- Hadjaidji., Benseghier, F., Derridj, A., 2013. Relative importance of the exploitation of medicinal plants in traditional medicine in the Northeastern Sahara. *Emirates. Journal of Food and Agriculture*, 25 (9), 657- 665.
- Hadjadj, S., Bayoussef, Z., Ould El Hadj-Khelil, A., Beggat, H., Bouhafs, Z., Boukaka, Y., Khaldi, I.A., Mimouni, S., Sayah, F., Tey, M., 2015. Ethnobotanical study and phytochemical screening of six medicinal plants used in traditional medicine in the Northeastern Sahara of Algeria (area of Ouargla). *Journal of Medicinal Plants Research* 8(41),1049-1059. <http://dx.doi.org/10.5897/JMPR2015.5932>.
- Hakim, M.; Yang S., 2016. Discoveries of Serine Protease Inhibitors from Scorpions. *J Proteom Bioinform.*9,101-6.
- Harouak, H., Ibjibjen, J., & Nassiri, L., 2022. Phytochemical Profile and Best Aqueous Extraction Method Between Two Species from Asteraceae Family that Are Very Effective Against Oral Diseases. *Chemistry Africa*, 1-13.
- Hamadou, H. H., Kallo, M. S., Manzo, L. M., Moussa, I., Adamou, R., Ikhiri, K., 2018. Criblage phytochimique et dosage des polyphénols du *Detarium microcarpum* Guill. et Perr. utilisé dans le traitement des maladies parasitaires au Niger. *Afrique science*, 14(5), 390-399.
- Hamdi, I., Belkacem, F., Fondougouma, O., 2017. Evaluation de l'activité antifongique des extraits aqueux et méthanolique d'une plante endémique de la wilaya d'Adrar contre la maladie de Bayoud (Doctoral dissertation, Université Ahmed Draïa-ADRAR).
- Hamdy, M.H., Roby, M., Sarhan, A., Abdel-Hamed, K., Khalel, S., Khalel, I., (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Industrial Crops and Products*, 43:827-831.
- Hamliche, H., Maiza, K., 2006. Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 105, pp. 358-367.
- Hassan, F., 1984. Production of scorpion antivenom. In: Tu, A. (Ed.), *Handbook of Toxins*, Vol. 2, Insect Poisons, Allergens and Other Invertebrates Venoms. Marcel Dekker, New York, pp. 577–605.

- Haston, E., Richardson, J. E., Stevens, P. F., Chase, M. W., Harris, D. J., 2009. The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: a linear sequence of the families in APGIII Botanical Journal of the Linnean Society. 161,128-131.
- Heba, A. M., Shaaban, E.A., Amin, A.M., Kenawy, S.A., 2011. Modulation of the Pharmacological and Biochemical Actions of *Leiurus quinquestriatus* (L.q) Scorpion Venom by Exposure to Gamma Radiation. The Egyptian Journal of Hospital Medicine.44, 354 – 370.
- Hendra, H., Moeljopawiro, S., Nuringtyas, T.R., 2016. Antioxidant and antibacterial activities of agarwood (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) leaves. AIP Conference Proceedings 1755, 140004. <https://doi.org/10.1063/1.4958565>.
- Heidarpour, M., Ennaifer, E., Ahari, H., Srairi-Abid, N., Borchani, L., Khalili, G., Shahbazzadeh, D., 2012. Histopathological changes induced by *Hemiscorpius lepturus* scorpion venom in mice. Toxicon, 59(3), 373-378.
- Hernández-Rodríguez, P., Baquero, L. P., Larrota, H. R., 2019. Flavonoids: Potential therapeutic agents by their antioxidant capacity. In Bioactive compounds (pp. 265-288). Woodhead Publishing.
- Hering, S. E., Jurca, M., Vichi, F. L., Azevedo-Marques, M. M., Cupo, P., 1993. 'Reversible cardiomyopathy' in patients with severe scorpion envenoming by *Tityus serrulatus*: evolution of enzymatic, electrocardiographic and echocardiographic alterations. Annals of tropical paediatrics, 13(2), 173-182.
- Hmimou, R., 2009. Situation des piqûres et envenimations scorpioniques au Maroc , étude épidémiologique et analytique des facteurs de risque sur la période 2002 – 2006 thèse de doctorat national -université ibn tofail, kénitra Soutenue publiquement.
- Hu, Y., Zhang, H., Qian, Q., Lin, G., Wang, J., Sun, J., Li, W., 2022. The Potential Roles of Unique Leaf Structure for the Adaptation of *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf. in Qinghai-Tibetan Plateau. Plants, 11(4), 512.
- Hussain, M., Debnath, B., Qasim, M., Bamisile, B. S., Islam, W., Hameed, M. S., Qiu, D., 2019. Role of saponins in plant defense against specialist herbivores. Molecules, 24(11), 2067.
- Hussain, T., Murtaza, G., Yang, H., Kalhor, M. S., Kalhor, D. H., 2020. Exploiting anti-inflammation effects of flavonoids in chronic inflammatory diseases. Current Pharmaceutical Design, 26(22), 2610-2619.
- Hutt, M.J., Houghton, P.J., 1998. A survey from the literature of plants used to treat scorpion stings. Ethnopharmacology, 60, (97-110).
- Imane, A. S. R. M. Z., 2020. Activité antioxydante des extraits d'*Asperula hirsuta* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf-M'sila).
- Inserm, P., 2013. Une molécule contre la douleur découverte à l'état naturel en Afrique. <http://presse-inserm.fr/une-moleculeantidouleur-decouverte-a-letat-naturel-en-afrique/9600/>.

- Isaacs, J.T., 2005. New strategies for the medical treatment of prostate cancer. *BJU International Suppl 2*, 35–40.
- Iserin, P., 2007. Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins. Ed, Larousse-Bordas .14-15, 54 p.
- Islam, T., Ganesan, K., Xu, B., 2019. New insight into mycochemical profiles and antioxidant potential of edible and medicinal mushrooms: A Review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 21(3),237—251.
- Islam, M. A., Bari, M. S., Taher, M. A., Chowdhury, A., Hossain, M. K., Rashid, M. A. 2020. Antidiarrheal and analgesic activities of *Bouea oppositifolia* (Roxb.) Adelb. in experimental Animal Model. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, 23(2), 167-171.
- Izzat-husna, H., Syed, A., Rizal, Amirrudin, B.A., 2014. Notes on scorpion fauna in kualalompak, krau wildlife reserve, pahang, Malaysia. *journal of wildlife and parks*, 28, 121-129.
- Jaghabir, M., 1991. Hypoglycemic effects of *Eryngium creticum*. *Archives of Pharmacia Research* 14(4), 295-297.
- Jahromi, S. G., 2019. Extraction techniques of phenolic compounds from plants. *Plant physiological aspects of phenolic compounds*, 1-18.
- Jakimiuk, K., Gesek, J., Atanasov, A. G., Tomczyk, M., 2021. Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 36(1), 1016-1028.
- Jain, S., Vaidya, A., Jain, N., Kumar, V., Modi, A., 2020. Bioactive Compounds of Royal Poinciana (*Delonix regia* (Hook.) Raf. Bioactive Compounds in Underutilized Vegetables and Legumes, 1-20.
- Jared, C., Alexandre, C., Mailho-Fontana, P.L., Pimenta, D.C., Brodie, J.R.E., Antoniazzi, M.M., 2020. Toads prey upon scorpions and are resistant to their venom: A biological and ecological approach to scorpionism . 178, (4–7).
- Jaskulska, A., Janecka, A. E., Gach-Janczak, K., 2020. Thapsigargin-From Traditional Medicine to Anticancer Drug. *International journal of molecular sciences*, 22(1), 4. <https://doi.org/10.3390/ijms22010004>.
- Jaulin, S., Quelennec, C., Largier, J., Gaymard, M., 2010. *Belisariusxambeui* – Le Bélisaire de Xambeu, le scorpion endémique de Catalogne. Inventaire et cartographie de l'espèce dans les Pyrénées-Orientales. Rapport d'étude de l'Opie et de la FRNC, Perpignan. P 50.
- Jiang, D., Tonggu, L., Gamal El-Din, T. M., Banh, R., Pomès, R., Zheng, N., Catterall, W. A. 2021. Structural basis for voltage-sensor trapping of the cardiac sodium channel by a deathstalker scorpion toxin. *Nature Communications*, 12(1), 1-13.
- Jiménez-Ferrer, J.E, Pérez-Terán, Y.Y, Roman-Ramos, R., Tortoriello, J., 2005. Antitoxin activity of plants used in Mexican traditional medicine against scorpion poisoning. *Phytomedicine*, 12, 116–22.

- Jmii, G., Molinillo, J. M., Zorrilla, J. G., Haouala, R., 2020. Allelopathic activity of *Thapsia garganica* L. leaves on lettuce and weeds, and identification of the active principles. South African Journal of Botany, 131, 188-194.
- Ilgün, S., Küpeli Akkol, E., Ilhan, M., Çiçek Polat, D., Baldemir Kılıç, A., Coşkun, M., Sobarzo-Sánchez, E., 2020. Sedative effects of latexes obtained from some *Lactuca L.* species growing in Turkey. Molecules, 25(7), 1587.
- Ginwala, R., Bhavsar, R., Chigbu, D. G. I., Jain, P., Khan, Z. K., 2019. Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin. Antioxidants, 8(2), 35.
- Kabbash, E. M., Ayoub, I. M., Gad, H. A., Abdel Shakour, Z. T., El Ahmady, S. H., 2021. Quality assessment of leaf extracts of 12 olive cultivars and impact of seasonal variation based on UV spectroscopy and phytochemical content using multivariate analyses. Phytochemical Analysis, 32(6), 932-941.
- Kahouadji, A., 1986. Recherches floristiques sur le massif montagneux des Béni — Snassène (Maroc oriental) Sci Tech du Languedoc Montpellier, 235.
- Kahouadji, M.S., 1995. Contribution à une étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Maroc oriental. Thèse de troisième cycle. Université Mohammed I. faculté des sciences, Oujda. 206 p.
- Khamadj, S., Dahmani, W., 2019. Evaluation de l'activité antioxydante *Thapsia garganica L* (Doctoral dissertation).
- Kalantri, P., Singla, R., Jain, A., Bansal, N. O., 2020. A rare case of scorpion sting-induced myocarditis with left atrial appendage clot leading to thromboembolic complications. Heart and Mind, 4(2), 53.
- Kalayci, S., Ustaoglu Iyigundogdu, Z., Yazici, M.A., Asutay, B., Demir, O., Sahin, F., 2016. Evaluation of antimicrobial and antiviral activities of different venoms. Infect. Disord. - Drug Targets 16, 44-53.
- Kazemi, S. M., Sabatier, J. M., 2019. Venoms of Iranian scorpions (Arachnida, Scorpiones) and their potential for drug discovery. Molecules, 24(14), 2670.
- Karadağ, M. K., Koyuncu, M., Atalar, M. N., Abdülmelik, A. R. A. S., 2021. Determination of Volatile Organic Compounds of *Artemisia campestris* subsp. *glutinosa*, *Lavandula angustifolia* Mill., and Ginger (*Zingiber officinale*) Plants using SPME/GC-MS. Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 14(1), 41-49.
- Karadeniz, F., Oh, J. H., Kong, C. S., 2021. Sesquiterpene Lactones: A Review of Biological Activities. Journal of Life Science, 31(4), 430-441.
- Karbab, A., Mokhnache, K., Ouhida, S., Charef, N., Djabi, F., Arrar, L., Mubarak, M. S. 2020. Anti-inflammatory, analgesic activity, and toxicity of *Pituranthos scoparius* stem extract: An ethnopharmacological study in rat and mouse models. Journal of Ethnopharmacology, 258, 112936.

Références bibliographiques

- Karima, Y., 2021. Etude floristique et Ethnobotanique des plantes médicinales dans le Tell sétifien (forêt de Tamntout, Beni Aziz), Essai de caractérisation biologique et pharmacopée de l'espèce *Erica arborea* L.
- Khacheba, I., Benamar, H., 2008. Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur l'amylase. Université Amar Telidji Laghouat. 75p.
- Khalil, R. R., Mustafa, Y. F., 2020. Phytochemical, antioxidant and antitumor studies of coumarins extracted from Granny Smith apple seeds by different methods. *Syst Rev Pharm*, 11(2), 57-63.
- Khamadj, S., Dahmani, W., 2019. Evaluation de l'activité antioxydante *Thapsia garganica* L (Doctoral dissertation).
- Kharrat, R., Chatter, R., Tarhouni, S., 2013. Criblage de l'effet anti-inflammatoire et analgésique des algues marines de la mer méditerranée. *Les Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 88 (1-4), 19-28.
- Khattabi, A., Soulaymani-Bencheikh, R., Achour, S., Salmi, L.R., 2011. Classification of clinical consequences of scorpion stings: consensus development. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 105, 364-369.
- Khamadj, S., Dahmani, W., 2019. Evaluation de l'activité antioxydante *Thapsia garganica* L (Doctoral dissertation).
- Khemili, D., Laraba-Djebari, F., Hammoudi-Triki, D., 2020. Involvement of Toll-like Receptor 4 in neutrophil-mediated inflammation, oxidative stress and tissue damage induced by scorpion venom. *Inflammation*, 43(1), 155-167.
- Kim, J. Y., Leem, J., Jeon, E. J., 2019. Protective effects of melatonin against aristolochic acid-induced nephropathy in mice. *Biomolecules*, 10(1), 11.
- Koleva, II., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., de Groot, A., Evstatieva, L.N., 2002. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis* 13,8-17.
- Kouamé, D. K. W., N'Guessan Jean-Baptiste Oussou, K., Kouakou, L., Yapo, A. P., 2021. Analgesic and antipyretic effects of an aqueous extract of *justicia flava* (forsk) vahl (acanthaceae) in mice. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 10, 14, (1-15).
- Kallo, M. S., Adamou, R., Sawadogo, J., Mahamane, A. A., Maarouhi, I. M., Ikhiri, K. 2018. Enquête ethnobotanique et criblage phytochimique de quelques plantes tinctoriales du Niger en vue d'une valorisation en énergie solaire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(2), 867-883.
- Kovarčík, F., Lowe, G., Stockman, M., Štáhlavský, F., 2020. Notes on *Compso buthus*: redescription of *C. arabicus* Levy et al., 1973 from Arabia, and description of two new species from North Africa (Scorpiones: Buthidae). *Euscorpius* 298, 1.

Références bibliographiques

- Kranl, K., Schlesier, K., Bitsch, R., Hermann, H., Rohe, M., Böhm, V., 2005. Comparing antioxidative food additives and secondary plant products use of different assays. *Am J Clin Nutr* 93(171–175).
- Krga, I., 2018. Role des anthocyanes et des métabolites sur la fonction des cellules endothéliales et plaquettes humaine *in vitro* (Doctoral dissertation, Université Clermont Auvergne).
- Kumar, P., Kamle, M., Mahato, D. K., Bora, H., Sharma, B., Rasane, P., Bajpai, V. K. 2020. *Tinospora cordifolia* (Giloy): phytochemistry, ethnopharmacology, clinical application and conservation strategies. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 21(12), 1165-1175.
- Kunjam, S.R., Jadhav, S.K., Tiwari, K.L., 2013. Traditional Herbal Medicines for the Treatment of Snake Bite and Scorpion Sting by the Tribes of South Surguja, Chhattisgarh, India. *Med Aromat Plants*, 2,1. DOI: 10.4172/2167-0412.10001
- Kuzmenkov, A.I., Nekrasova, O.V., Kudryashova, K.S., Peigneur, S., Tytgat, J., Stepanov, A.V., Kirpichnikov, M.P., Grishin, E.V., Feofanov, A.V., Vassilevski ,A.A., 2016. Fluorescent protein-scorpion toxin chimera is a convenient molecular tool for studies of potassium channels. *Sci. Rep*, 6, 33314.
- Lacoste, S., 2014. *Ma bible de la phytothérapie*. Edit. Leduc S. France. 979-1028500030.
- Ladjel, M.A., Laraba,D.F., 2020. Propriétés Anti-oxydante et Anti-Inflammatoire de l’Huile Essentielle de *Salvia officinalis* sur les effets Immunopathologiques induits par l’Envenimation Scorpionique. *Algerian Journal of Health Sciences*. Edition de l’Agence Thématique de Recherche en Sciences de la Santé (ATRSS), 2(2710-808).
- Lahlou, S., Figueiredo, A.F., Magalhaes, P.J., Leal-Cardoso, J.H., 2002. Cardiovascular effects of 1,8-cineole, a terpenoid oxide present in many plant essential oil, in normotensive rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol*, 80, 1125–1131.
- Lamraoui, A., Adi-Bessalem, S., Laraba-Djebari, F. (2014). Modulation of tissue inflammatory response by histamine receptors in scorpion envenomation pathogenesis: involvement of H4 receptor. *Inflammation*, 37(5): 1689-1704
- Le Bars, D., Gozariu, M., Cadden, S.W., 2001. Animal Models of Nociception. *Pharmacol. Rev*, 53, 597–652.
- Lebeda, A., Kitner, M., Mieslerova, B., Křístková, E., Pavlíček, T., 2019. *Leveillula lactucae-serriolae* on *Lactuca serriola* in Jordan. *Phytopathologia Mediterranea*, 58(2).
- Le Bel, S., 2020. Assistances circulatoires et cardiopathies de l’en ant. DIU réanimation de cardiopathies congénitales. <http://www.arcothova.com/wpcontent/uploads/2020/02/Cours-assistances-SLebel.pdf>.
- Lev, E., 2002. Reconstructed materia medica of the Medieval and Ottoman al-Sham. *Journal of Ethnopharmacology*, 80(2), 167-179. Lieutaghi, P., 1996. *Le livre des bonnes herbes* (3ème édition révisée) ISBN : 978-2-7427-0953-3.

Références bibliographiques

- Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., Wu, H., 2020. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 80-89.
- Lister, E., Wilson, P., 2001. Measurement of total phenolics and ABTS assay for antioxidant activity (personal communication). Lincoln, New Zealand: Crop Research Institute. 18, 78.
- Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F., Alasalvar, C., 2006. Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. *Food Chemistry* 99, 121-128.
- López-Gámez, G., Elez-Martínez, P., Quiles-Chuliá, A., Martín-Belloso, O., Hernando-Hernando, I., Soliva-Fortuny, R., 2021. Effect of pulsed electric fields on carotenoid and phenolic bioaccessibility and their relationship with carrot structure. *Food Function*, 12(6), 2772-2783.
- Loucif, K., Benabdallah, H., Benchikh, F., Mehloos, S., Souici, C. B., Amira, S., 2020. Total Phenolic Contents, DPPH Radical Scavenging and β -Carotene Bleaching Activities of Aqueous Extract from *Ammoides atlantica*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(3-s), 196-198.
- Lourenço, W.R., Slimani, T., Berahou, A., 2003. Le genre *Butheoloides* Hirst (Scorpiones, Buthidae); description d'une nouvelle espèce pour le Maroc avec des considérations écologiques et biogéographiques. *Biogeographica*. 79, 19-30.
- Lourenço, W.R., 1991. Les scorpions organismes modèles en biogéographie. *C. R. Soc. Biogeog.* 67 (2), 132.
- Lourenco, W.R., 2008a. Description of *Tityus (Atreus) neblina* sp.n. (Scorpiones, Buthidae), from the 'Parque Nacional do Pico da Neblina', in Brazil/Venezuela, with comments on some related species. *Bol. S.E.A.* 43, 75-79.
- Lourenço, W. R., 2018. Scorpions and life-history strategies: from evolutionary dynamics toward the scorpionism problem. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 24.
- Luiz, A., 2007. Antinociceptive action of ethanolic extract obtained from roots of *Humirianthera ampla* Miers. *Journal of Ethnopharmacology* 114(3), 355-363.
- Mabika, K., 1983. *Plantes Médicinales et médecine Traditionnelle du Kasai-Occidental*. Thèse de doctorat en Sciences. Université de Kisangani. Zaïre.
- Madi, A., 2018. Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*. Thèse à l'Université des frères mentouri. constantine faculté des sciences de la nature et de la vie Option Biotechnologie Végétale.
- Maiza, K., Brac, De La Perriere, R.A. E.T., Hammiche, V., 1993. Pharmacopée traditionnelle saharienne : Sahara septentrional. *Ethnopharmacologie*, 169-171.

- Magozwi, D. K., Dinala, M., Mokwana, N., Siwe-Noundou, X., Krause, R. W., Sonopo, M., Tembu, V. J., 2021. Flavonoids from the Genus *Euphorbia*: Isolation, Structure, Pharmacological Activities and Structure–Activity Relationships. *Pharmaceuticals*, 14(5), 428.
- Mahmood, N., Manzoor, F., Khaled, A., Javed, M. T., Qureshi, Z., 2021. Anti-proliferative or Cytopathic Potential of *Thapsia garganica*, *Citrus sinensis*, *Citrus limon* and *Vinca rosea* Extracts Against Human Embryonic Kidney Carcinoma Cell Line. *West Indian Medical Journal*, 69(5).
- Mak, C. W., Yeung, K. C. F., Chan, K. M., 2019. Acute toxic effects of polyethylene microplastic on adult zebrafish. *Ecotoxicology and environmental safety*, 182, 109442.
- Maleki, S. J., Crespo, J. F., Cabanillas, B., 2019. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 299, 125124.
- Malih I., Oukkache , N. Hassar M., El Hilali A., El Gnaoui N., Taki H., Ben Omar H., Saïle R.,Ghalim N., 2009. Etude des effets histopathologiques engendrés par le venin du scorpion marocain « *Androctonusmauretanicusmauretanicus* » et par sa fraction toxique chez la souris.SMBBM. 20-24.
- Manju, S. L., Ethiraj, K. R., Elias, G., 2018. Safer anti-inflammatory therapy through dual COX-2/5-LOX inhibitors: A structure-based approach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 121, 356-381.
- Mansour, N.M., Tawfik, M.N., Yaseen, A.E., Rahmy, T.R., 2011. Protective role of *ambrosia maritime* Plant extract against alterations induced by *leiurus quinquestriatus* Scorpion venom on skeletal muscles and Intestinal tissues of rats. *Egypt. J. Nat. Toxicol.* 8, 81–103.
- Marcheselli, V.L, Hong, S., Lukiw, W.J., Hua Tian, X., Gronert, K., Musto, A., 2003. Novel docosanoids inhibit brain ischemia-reperfusion-mediated leukocyte infiltration and pro-inflammatory gene expression. *J Biol Chem*; 278(43807–43817).
- Marmouzi, I., El Madani,N., Charrouf, Z., Cherrah, Y. , El Abbes Faouzi M. Y., 2015. Analyse approximative et composition en acides gras et minéraux de *Chenopodium quinoa* Willd. Marocain, et propriétés antioxydantes selon la polarité. *Phytothérapie* volume 13 (110–117).
- Martinez-Swatson, K., Quiñero-López, C., Ernst, M., Rønsted, N., Barnes, C. J., Simonsen, H. T., 2020. Thapsigargin and induced chemical defence in *Thapsia garganica*. *Chemoecology*, 30(5), 255-267.
- Memmi, A., Sansa, G., Rjeibi, I., El Ayeb, M., SRAiRi Abid, N., Bellasfer, Z., fekhieh, A., 2007. Utilisation des plantes médicinales contre l’envenimation scorpionique et ophidienne. *Archs. Inst. Pasteur Tunis.* 84, 1-3.
- Mendoza-Tobar, L. L., Meza-Cabrera, I. A., Sepúlveda-Arias, J. C., Guerrero-Vargas, J. A. 2021. Comparison of the Scorpionism Caused by *Centruroides margaritatus*, *Tityus pachyurus* and *Tityus n. sp. aff. metuendus* Scorpion Venoms in Colombia. *Toxins*, 13(11), 757.

Références bibliographiques

- Merah, S., 2020. Activités antioxydante et antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits méthanolique et aqueux de *Satureja montana* L (Doctoral dissertation, Université Mohamed Boudiaf-M'sila).
- Merouani, N., Belhattab R., Sahli, F., 2017. Evaluation of the biological activity of *aristolochia longa*. Extracts IJPSR Vol. 8(5)1978-1992.
- Mesmin, K. Y., Kamélé, K. Y., Gervaise, K. A., Jules, K. N. G., Adama, B., Honora, T. B. F., Witabouna, K. M., 2018. Activité Anthelminthique In Vitro Et Teneurs En Tanins Et Flavonoïdes De Huit Plantes Fourragères Utilisées En Elevage Des Petits Ruminants En Côte d'Ivoire. European Scientific Journal, 14, (15), 1857 – 7881.
- Miara, M. D., Bendif, H., Ouabed, A., Rebbas, K., Hammou, M. A., Amirat, M., Teixidor-Toneu, I., 2019. Ethnoveterinary remedies used in the Algerian steppe: Exploring the relationship with traditional human herbal medicine. Journal of ethnopharmacology, 244, 112164.
- Micaiah, J., Ward, Schyler, A., Ellsworth, Gunnar, S., Nystrom, A., 2018. Global accounting of medically significant scorpions: Epidemiology, major toxins, and comparative resources in harmless counterparts. Toxicon. 151, 137-155.
- Minker, D.C., 2013. 200 plantes qui vous veulent du bien. Editions Larousse France. 448 pp.
- Minutti-Zanella, C., Gil-Leyva, E. J., & Vergara, I., 2021. Immuno modulatory properties of molecules from animal venoms. Toxicon, 191, 54-68.
- Miranda, F., Rochat, H., Lissitzky, S., 1970. La neurotoxine du venin des scorpions, Purification à partir du venin de deux espèces de scorpions. Eur. J. Biochem., 16, 514-523.
- Mirakabadi, A. Z., Jalali, A., Jahromi, A. E., Vatanpur, H., Akbary, A., 2006. Biochemical changes and manifestations of envenomation produced by *Odonthobuthus doriae* venom in rabbits. Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases, 12, 67-77.
- Muhammad, B. F., Aliyu, D., Njidda, A. A., Madigawa, I. L., 2011. Some haematological, biochemical and hormonal profile of pregnant and non-pregnant she-camels (*Camelus dromedarius*) raised in a Sudan savanna zone of Nigeria. Journal of Camel Practice and Research, 18(1), 73-77.
- Mohamad, I.L., Elsayh, K.I., Mohammad, H.A. 2014. Clinical characteristics and outcome of children stung by scorpion. Eur J Pediatr. 173, 815–818. <https://doi.org/10.1007/s00431-013-2244-8>
- Mojab, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N., Vahidipour, H.R., 2003. Phytochemical screening of some species of Iranian plants. Iranian J. Pharma. Res. 77-82.
- Mondiale de la Santé, O. (2017). Système mondial de surveillance et de suivi de l'OMS pour les produits médicaux de qualité inférieure et falsifiés (GSMS): résumé d'orientation (No. WHO/EMP/RHT/SAV/2017.01). Organisation mondiale de la Santé.
- Monod, L., Dupérré, N., Harms, D., 2019. An annotated catalogue of the scorpion types (Arachnida, Scorpiones) held in the Zoological Museum Hamburg. Part I: Parvorder Iurida Söleglad & Fet, 2003. Evolutionary Systematics, (2), 109-201.

- Morais Oliveira-Tintino, C. D., Pessoa, R. T., Fernandes, M. N. M., Alcântara, I. S., da Silva, B. A. F., de Oliveira, M. R. C., de Menezes, I. R. A., 2018. Anti-inflammatory and anti-edematogenic action of the *Croton campestris* A. St.-Hil (Euphorbiaceae) essential oil and the compound β -caryophyllene in in vivo models. *Phytomedicine*, 41, 82-95.
- Moss, M., Cook, J., Wesnes, K., Duckett, P., 2003. Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. *International Journal of Neuroscience*. 113, 15-38.
- Moujir, L., Callies, O., Sousa, P., Sharopov, F., & Seca, A. M., 2020. Applications of sesquiterpene lactones: a review of some potential success cases. *Applied Sciences*, 10(9), 3001.
- Msaada, K., Salem, N., Bachrouch, O., Bousselmi, S., Tammar, S., Alfaify, A., Khaldoun, A.S., Ben Ammar, W., Azeiz, S., Adel Hajj, Majdi Hammami, B., Selmi, S., 2015. Chemical Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) Essential Oils and Phenolics. *Research Article*. 804658. <https://doi.org/10.1155/2015/804658>.
- Mulot, M.A., 2015. *Secrets d'une herboriste*. éditions du Dauphin, France.107-115pp.
- Mullen, G. R., Sissom, W. D., 2019. Scorpions (Scorpiones). In *Medical and veterinary entomology* (pp. 489-504). Academic Press.
- Munawar, A., Ali, S., Akrem, A., Betzel, C., 2018. Snake venom peptides: tools of biodiscovery. *Toxins*, 10, 2–29. <https://doi.org/10.3390/toxins10110474>.
- Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., Mirzaei, M., Moghaddam, A. H. 2012. Protective effect of quercetin against sodium fluoride induced oxidative stress in rat's heart. *Food & function*, 3(4), 437-441.
- Nait Mohamed, F. A., Laraba-Djebari, F., 2021. Scorpion envenomation: a deadly illness requiring an effective therapy. *Toxin Reviews*, 40(4), 592-605.
- Nakib, I., Martin-Eauclaire, M.F., Laraba-Djebari, F., 2016. Involvement of Cholinergic and Adrenergic Receptors in Pathogenesis and Inflammatory Response Induced by Alpha-Neurotoxin Bot III of Scorpion Venom. *Inflammation*. 39(5), 1670-80.
- Narmada, I. B., Sarasati, A., Wicaksono, S., Rezkita, F., Wibawa, K. G. P., Hayaza, S., 2020. Phytochemical screening, antioxidant activity, functional groups and chemical element characterization analysis of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) in East Javanese Green Tea methanolic extract: an experimental in vitro study. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(5), 511-519.
- Nasim, M.J., Bin Asad, M.H.H., Sajja, A., Khan, S.A., Mumtaz, A., Farzana, K., Rashid, Z., Murtaza, G., 2013. Combating Of Scorpion Bite With Pakistani Medicinal Plants Having Ethno-Botanical Evidences As Antidote. *Acta Poloniae Pharmaceutica N Drug Research*, 70 (3) , 387-394,
- Ndjolo, P., Kahumba Byanga, J., Lumbu Simbi, J. B. 2018. Criblage Phytochimique et activité antimicrobienne de sept fleurs comestibles utilisées en médecine traditionnelle à Lubumbashi (RDC). *Journal of Applied Biosciences*, 124, 12455-12467.

- Nguyen, L. T., Fărcaș, A. C., Socaci, S. A., Tofană, M., Diaconeasa, Z. M., Pop, O. L., Salanță, L. C., 2020. An overview of Saponins—a bioactive group. *Bull UASVM Food Sci Technol*, 77, 25-36
- Nayeem, N., Imran, M., 2018. Phytochemical Investigation and In-Vitro Biological Activity Of *Sonchus Oleraceus* And *Lactuca Serriola*, *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Science*, 7(5), (688-697) (2277–4998).
- Nour Eldin, A., Sakr, M., Khater, A., 2022. Study of Hematological Parameters in Patients with Scorpion Envenomation Presented to the Poison Control Center of Ain Shams University Hospitals. *Ain Shams Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*, 38(1), 92-102.
- Nencioni, A. L. A., Beraldo Neto, E., Freitas, L. A. D., & Dorce, V. A. C., 2018. Effects of Brazilian scorpion venoms on the central nervous system. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*, 24.
- Nesa, M., Karim, S. M., Api, K., Sarker, M., Rahman, M., Islam, M., Munir, M. S., 2018. Screening of *Baccaurea ramiflora* (Lour.) extracts for cytotoxic, analgesic, anti-inflammatory, neuropharmacological and antidiarrheal activities. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 1-9.
- Nickavar, B., Abolhasani, F. S., 2009. Screening of antioxidant properties of seven umbelliferae fruits from Iran. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22, 30-35.
- Nunes, C. D. R., Barreto Arantes, M., Menezes de Faria Pereira, S., Leandro da Cruz, L., de Souza Passos, M., Pereira de Moraes, L., Barros de Oliveira, D., 2020. Plants as sources of anti-inflammatory agents. *Molecules*, 25(16), 3726.
- Nurrulhidayah, A. F., Rafi, M., Lukitaningsih, E., Widodo, H., Rohman, A., Windarsih, A. 2020. Review on in vitro antioxidant activities of *Curcuma* species commonly used as herbal components in Indonesia. *Food Research*, 4(2), 286-293.
- Obese, E., Biney, R. P., Henneh, I. T., Anokwah, D., Adakudugu, E. A., Woode, E., Ameyaw, E. O. 2021. Antinociceptive effect of the hydroethanolic leaf extract of *Calotropis procera* (Ait) R. Br.(Apocynaceae): Possible involvement of glutamatergic, cytokines, opioidergic and adenosinergic pathways. *Journal of Ethnopharmacology*, 278, 114261.
- O.C.D.E. Organisation De Coopération Et Développement Economique n °425. 2008. Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques toxicité orale aiguë - Méthode de l'ajustement des doses.
- Ofeimun, J. O., Aghulor, H. A., Nworgu, Z. A., 2022. Phytochemical screening and analgesic effect, in mice, of the methanolic leaf extract of *Manniophyton fulvum* Mull.-Arg.(Euphorbiaceae). *Journal of Pharmacy & Bioresources*, 19(1), 24-32.
- Ohikhena, F. U., Wintola, O. A., Afolayan, A. J., 2018. Quantitative phytochemical constituents and antioxidant activities of the mistletoe, *phragmanthera capitata* (sprengel) balle extracted with different solvents. *Pharmacognosy Research*, 10(1), 16.
- O.M.S., 2004. Nouveaux principes directeurs de l'OMS visant à promouvoir l'usage rationnel des médicaments alternatifs.

- Ojanguren-affilastro, A.A., Adilardi, R.S., Mattoni, C.I., Ramírez, M.J., Ceccarelli, F.S., 2017. Molecular phylogenetics and evolution dated phylogenetic studies of the southernmost American buthids (Scorpiones ; Buthidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 110, 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.02.018>.
- Oguntibeju, O. O., 2018. Medicinal plants with anti-inflammatory activities from selected countries and regions of Africa. *Journal of inflammation research*, 11, 307.
- Olamendi-Portugal, T., Csoti, A., Jimenez-Vargas, J.M., Gomez-Lagunas, F., Panyi GPossani, L.D., 2017. Pi5 and Pi6, two undescribed peptides from the venom of the scorpion *Pandinus imperator* and their effects on K_p-channels, *Toxicon*. 133(136-144).
- Ola-Mudathir, K.F., Maduagwu, E.N., 2014. Antioxidant Effects of Methanol Extract of *Allium cepa* linn on Cyanide-induced Renal Toxicity in Male Wistar Rats Niger. *J. Physiol. Sci.* 29. 147-151.
- Oliveira Yamashita, F., Torres-Rêgo, M., dos Santos Gomes, J. A., Félix-Silva, J., Passos, J. G. R., de Santis Ferreira, L., de Freitas Fernandes-Pedrosa, M., 2020. Mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) fruit juice decreases acute pulmonary edema induced by *Tityus serrulatus* venom: Potential application for auxiliary treatment of scorpion stings. *Toxicon*, 179, 42-52.
- Ordaz, J. J., Hernández, J. M., Ramírez-Godínez, J., Castañeda-Ovando, A., González-Olivares, L. G., Contreras-López, E., 2018. Bioactive compounds in aqueous extracts of lemon balm (*Melissa officinalis*) cultivated in Mexico. *Arch. latinoam. nutr.* 68(3), 268-279.
- O.R.E.D.D Marrakech Safi, Programme ACCN., 2015. Identification et analyse des événements climatiques extrêmes dans la Région Marrakech Safi, rapport final, Maroc, 105p.
- Ortiz, E., Possani, L. D., 2018. Scorpion toxins to unravel the conundrum of ion channel structure and functioning. *Toxicon*, 150, 17-27.
- Otero, R., Nuñez, V., Barona, J., Fonnegra, R., Jimenez, S.L., Osorio, R.G., Saldarriaga, M. Diaz, A., 2000. Snake bites and ethnobotany in the northwestern region of Colombia. Part III. Neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. *Newspaper Ethnopharmacology*, 73, 233-341.
- Ouguir, O., 2018. Contribution à la valorisation de huit espèces de plantes aromatiques et médicinales étude chimique et biologique Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès.
- Oukkache, N., Martin-Eauclaire, M.F., Chgoury, F., Boussada, L, Saile, R., Karoumi, A., Ghalim, N., 2006. Données épidémiologiques sur l'envenimation scorpionique au Maroc. *Toxines et Cancer*, 705 (2-6).
- Oukkache, N., Rosso, J. P., Alami, M., Ghalim, N., Saile, R., Wassar, M., Bougis, P. E. & Martin-Eauclaire, M. F., 2008. New analysis of the toxic compounds from the *Androctonus mauretanicus* scorpion venom. *Toxicon*, 51, 835–852.

- Oukkache, N., Chgoury, F., Lalaoui, M., Cano, A.A., Ghalim, N., 2013. Comparison between two methods of scorpion venom milking in Morocco. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 19, 5.
- Oukkache, N., Chgoury, F., Lalaoui, M., Cano, A.A., Ghalim, N., 2014. Comparison between two methods of scorpion venom milking in Morocco. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 19, 5.
- Ould El Hadj, M., Didi., Hadj-Mahammed, M., Zabeirou, H., 2003. Place of the spontaneous plants samples in the traditional pharmacopoeia of the area of Ouargla (Septentrional east Sahara), *Courrier du Savoir.* 3,47-51.
- Ounis, Romaisa, Boumaza, Djamila, Karouche, Saida., 2018. Evaluation du contenu phénolique et des activités biologiques de *Teucrium polium*. these doctorat Université Oum El Bouaghi.
- Ozkan, O., Adiguzel, S., Kar, S., Kurt, M., Yakistiran, S., Cesaretli, Y., Orman, M., Karaer, Z., 2007. Effects of *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807) (Scorpiones: Buthidae) venom on rats: correlation among acetylcholinesterase activities and electrolytes levels. *J.Venom.Anim.Toxins.Incl.Trop.Dis.*13(1), 69–84.
- Ozkan, O., Adiguzel, S., Yakistiran, S., Filazi, A., 2006. Study of the relationship between *Androctonus crassicauda* (Olivier, 1807; Scorpiones, Buthidae) venom toxicity and telson size, weight and storing condition. *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 12, 297–309.
- Ozturks, M., Aydogmus-Ozturk, F. Duru, M.E., Topçu, G., 2007. Antioxidant activity of stem and root extracts of rhubarb (*Rheum ribes*): an edible medicinal plant. *Food Chemistry.* 103(2) 623-630.
- Ozturk, B., Parkinson, C., Gonzalez-Miquel, M., 2018. Extraction of polyphenolic antioxidants from orange peel waste using deep eutectic solvents. *Separation and Purification Technology*, 206, 1-13.
- Özer Z., Kiliç T., Çarikçi S., Yilmaz H. 2018. Investigation of phenolic compounds and antioxidant activity of *Teucrium polium* L. decoction and infusion. *Arastırma Makalesi* 20(1): 212-218.
- Padilla-González, G. F., Grosskopf, E., Sadgrove, N. J., Simmonds, M. S., 2022. Chemical Diversity of Flavan-3-Ols in Grape Seeds: Modulating Factors and Quality Requirements. *Plants*, 11(6), 809.
- Paço, A., Brás, T., Santos, J. O., Sampaio, P., Gomes, A. C., Duarte, M. F., 2022. Anti-Inflammatory and Immunoregulatory Action of Sesquiterpene Lactones. *Molecules*, 27(3), 1142.
- Park, T.J., Song, K.Y., Sohn, S.H., Lim, I.K., 2002. Marked inhibition of testosterone biosynthesis by the hepatotoxin nodularin due to apoptosis of Leydig cells. *Mol. Carcinog.* 34, 151–163. <https://doi.org/10.1002/mc.10059>
- Panayotis, N., Freund, P. A., Marvaldi, L., Shalit, T., Brandis, A., Mehlman, T., Fainzilber, M., 2021. β -sitosterol reduces anxiety and synergizes with established anxiolytic drugs in mice. *Cell Reports Medicine*, 2(5), 100281.

- Patil, 2009, A Retrospective Analysis of a Rural Set Up Experience with Special Reference to Dobutamine in Prazosin Resistant Scorpion Sting Cases. *Physician*, 57,13.
- Paun, G., Neagu, E., Moroeanu, V., Albu, C., Ursu, T. M., Zangfirescu, A., Radu, G. L., 2018. Anti-inflammatory and antioxidant activities of the *Impatiens noli-tangere* and *Stachys officinalis* polyphenolic-rich extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28, 57-64.
- Perez, G.R.M., Pérez, G.C., Pérez, G.S., Zavala, S., 1998. Effect of triterpenoids of *Bouvardia ternifolia* on blood sugar levels of normal and alloxan diabetic mice. *Phytomedicine*, 5, 475–478.
- Pelt, J. M., 1980. *Les drogues, leur histoire et leurs effets*. Édition Doin, Paris, 221p.
- Petricevich, V.L., 2010. Scorpion Venom and the Inflammatory Response. *Mediators of Inflammation*. 16-22.
- Pierre, A., Bernard, A.G., 2015. Envenimations par les animaux terrestres. Of left ventricular function in severe scorpion envenomation. Ed. *Médecine tropicale*. 10p.
- Pillai, S. K., Kobayashi, K., Mathews, M., Mathai, T., Sivakumar, B., Sadasivan, P., 2021. John William Trevan's concept of Median Lethal Dose (LD50/LC50)–more misused than used. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*, 15(3), 137.
- Pimenta, A.M.C., Martin-Eauclaire, M.F., Rochat, H., Figueiredo, S.G., Kalapothakis, E., Afonso, L.C.C., De Lima, M.E., 2001. Purification, amino-acid sequence and partial characterization of two toxins with anti-insect activity from the venom of the South American scorpion *Tityusbahiensis* (*Buthidae*). *Toxicon*. 39, 1009-1019.
- Pineau, S., 2012. Mécanismes d'action cellulaires et physiologiques des composés de la mélisse (*Melissa officinalis* L.) et de la valériane (*Valeriana officinalis* L.) Caractérisation et perspectives d'applications pharmaceutiques et phytosanitaires. Thèse d'exercice : Pharmacie. Université Angers UFR de Sciences Pharmaceutiques et d'Ingénierie de la Santé.
- Pipelzadeh, M. H., Dezfulian, A. R., Jalali, M. T., Mansouri, A. K., 2006. In vitro and *in vivo* studies on some toxic effects of the venom from Hemiscorpius lepturus scorpion. *Toxicon*, 48(1), 93-103.
- Pinto, M. C. L., Melo, M. M., Costa, M. E. R., Labarrere, C. R., 2010. Hematological and biochemical profiles of rats submitted to experimental poisoning with *Tityus serrulatus* venom. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62, 350-356.
- Polis, G.A., 1990. Introduction to the biology of Scorpions. In “The Biology of Scorpions” G. Polis ed. Stanford University press. Stanford, 1-8.
- Pucca, M.B., Cerni, F.A., Pinheiro Junior, E.L., Bordon, K.C.F., Amorim, F.G., Cordeiro, F.A., Longhim, H.T., Cremonese, C.M., Oliveira, G.H., Arantes, E.C., 2015. *Tityus serrulatus* venom A lethal cocktail. *Toxicon*, 108, 272–284. doi: 10.1016/j.toxicon.2015.10.015.
- Purma, A.R., Venkateshwara, J.R., 2013. Analgesic activity of *Lepidagathis cristata* wild flowers extracts. *Int. J. Res. Ayurveda Pharm*, 4(4), 510-513.

Qasem, J.R., 2015. Prospects of wild medicinal and industrial plants of saline habitats in the Jordan valley. *Pak. J. Bot.* 47, 551-570.

Quintero-Hernandez, V., Jimenez-Vargas, J.M., Gurrola, G.B., Valdivia, H.H., Possani, L. D., 2013. Scorpion venom components that affect ion-channels function. *Toxicon*, 76, 328–342. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2013.07.012>

Rached, W., Benamar, H., Bennaceur, M., Marouf. , 2010. Screening of the Antioxidant Potential of Some Algerian Indigenous Plants. *Journal of Biological Sciences*. 10, 316-324.

Rafiee, Z., Moaiedi, M. Z., Gorji, A. V., Mansouri, E., 2020. *p*-Coumaric acid mitigates doxorubicin-induced nephrotoxicity through suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Archives of Medical Research*, 51(1), 32-40.

Raji, P., Samrot, A. V., Keerthana, D., & Karishma, S., 2019. Antibacterial activity of alkaloids, flavonoids, saponins and tannins mediated green synthesised silver nanoparticles against *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Cluster Science*, 30(4), 881-895.

Rahmouni, M., 2019. Extraction et activité biologique de quelques principes actifs (flavonoïdes) (Doctoral dissertation, Université Ahmed Draïa-Adrar).

Rasul, N. R., 2020. Growth performance and microflora in growing quail fed diets supplemented with *Lactuca serriola* powder. *Mesopotamia Journal of Agriculture*, 48(4), 123-131.

Raviv, D., Gefen, E., 2021. Post-feeding thermophily in a scorpion is associated with rapid digestion and recovery of maximal nocturnal activity. *Journal of Insect Physiology*, 129, 104155.

Razi, M., 2000. *Alhavi fi-al-tib* (in Arabic). Beirut, Lebanon: Dar Al_Kotob Al-ilmiyah, 20-21pp.

Rein, J.O., 2020. The scorpion files. Accessed. <https://www.ntnu.no/ub/scorpion-files/>. (Accessed May 2020)

Ribeiro, V. P., Símaro, G. V., Mejia, J. A. A., Arruda, C., Bastos, J. K., 2021. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the hydroalcoholic extract and the volatile fraction of southeastern Brazilian brown propolis. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 31(1), 59-66.

Rosendal, S., Kirk, O .J., Nielsen, J.B., 1989. Biosynthesis of the iridoid glucoside cornin in *Verbena officinalis* *Phytochemistry*. 28, 1(97-105).

Sadine, S.E., 2012. Contribution à l'étude de la faune scorpionique du Sahara septentrional Est algérien (Ouargla et El Oued). Thèse de doctorat en sciences agronomiques. Université Kasdi Merbah – Ouargla, Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers. Algérie. 10p.

Sadine, S.E., Djilani, S., Kerboua K. E., 2020. Envenimation Scorpionique. Algerian. *Journal of Health Sciences*, 2(1-3).

Références bibliographiques

- Saez, N.J., Herzig, V., 2019. Versatile spider venom peptides and their medical and agricultural applications. *Toxicon* 158, 109–126. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.11.298>.
- Sako, F.B., Bangoura, E.F., Traoré, F.A., 2014. Les envenimations scorpioniques traitées dans le service des maladies infectieuses et tropicales de l'hôpital national Donka, Guinée. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 107, 323–326. <https://doi.org/10.1007/s13149-014-0385-2>.
- Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., Douira, A., 2010. Études floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, 31, 133-146.
- Saldarriaga-Hernandez, S., Melchor-Martínez, E. M., Carrillo-Nieves, D., Parra-Saldívar, R., Iqbal, H. M., 2021. Seasonal characterization and quantification of biomolecules from sargassum collected from Mexican Caribbean coast—A preliminary study as a step forward to blue economy. *Journal of Environmental Management*, 298, 113507.
- Saidani, C., Béchohra, L., Laraba-Djebari, F., Hammoudi-Triki, D., 2019. Kidney inflammation and tissue injury induced by scorpion venom: Comparison with a nephrotoxic model. *Toxin Reviews*, 38(3), 240-247.
- Salleh, W. M. N. H. W., Abdullah, N., Hashim, N. A., Khong, H. Y., Khamis, S., 2019. Aporphine alkaloids from *Piper erecticaule* and acetylcholinesterase inhibitory activity. *B Latinoam Caribe Pl*, 18, 527-32.
- Salih, B. A., 2019. Effect of *Lactuca serriola* on β -Cell dysfunction and Glucose Tolerance induced by High Sucrose fed in Albino Rats. In *Journal of Physics: Conference Series*. 1294, (6, 062092).
- Sami-Merah, S., Hammoudi-Triki, D., Martin-Eauclaire, M. F., Laraba-Djebari, F., 2008. Combination of two antibody fragments F (ab')₂/Fab: An alternative for scorpion envenoming treatment. *International immunopharmacology*, 8(10), 1386-1394.
- Santibanez-Lopez, C.E., Possani, L.D., 2015. Overview of the Knottin scorpion toxin-like peptides in scorpion venoms: insights on their classification and evolution. *Toxicon* 317–326. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.06.029>.
- Santibáñez-López, C. E., Cid-Uribe, J. I., Batista, C. V., Ortiz, E., Possani, L. D., 2016. Venom gland transcriptomic and proteomic analyses of the enigmatic scorpion *Superstitionia donensis* (Scorpiones: Superstitioniidae), with insights on the evolution of its venom components. *Toxins*, 8(12), 367.
- Santibáñez-López, C. E., Aharon, S., Ballesteros, J. A., Gainett, G., Baker, C. M., González-Santillán, E., Sharma, P. P., 2022. Phylogenomics of scorpions reveal contemporaneous diversification of scorpion mammalian predators and mammal-active sodium channel toxins. *Systematic Biology*.
- Santos, F.A., Rao, V.S., 2000. Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. *Phytother, Res.* 14, 240–244.
- Sarra, B., Marina, K., Fatima, C., 2020. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne des deux plantes *Lavandula stoechas* et *Lavandula officinalis*.

- Saudagar, R. B., Saokar, S., 2019. Anti-inflammatory natural compounds from herbal and marine origin. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(3), 669-672.
- Saouli, S., 2019. Taxonomies et principes actifs des plantes médicinales. Université mohamed boudiaf - m'sila.
- Shaikh, A. S., Thomas, A. B., Chitlange, S. S., 2020. Herb–drug interaction studies of herbs used in treatment of cardiovascular disorders—A narrative review of preclinical and clinical studies. *Phytotherapy Research*, 34(5), 1008-1026.
- Sharafatmandrad, M., Khosravi Mashizi, A., 2020. Ethnopharmacological study of native medicinal plants and the impact of pastoralism on their loss in arid to semiarid ecosystems of southeastern Iran. *Scientific Reports*, 10(1), 1-18.
- Scherrer, A.M., Motti, R., Weckerle, C.S., 2005. Traditional plant use in the areas of Monte Vesole and Ascea, Cilento National Park. *Ethnopharmacology*, 97, 129-143.
- Selvaraj, S., Krishnan, U. M., 2021. Vanadium–Flavonoid Complexes: A Promising Class of Molecules for Therapeutic Applications. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(17), 12435-12452.
- Shetty, S., Pujar, M., & Koujalgi, M. B., 2019. Naughty onset of acute pulmonary edema in 11 year old adolescent boy. *Journal of Pediatric Critical Care*, 6(2), 48.
- Shi, P., Du, W., Wang, Y., Teng, X., Chen, X., Ye, L., 2019. Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of bulbs, leaves, and flowers made from *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. *Food science & nutrition*, 7(1), 148-154.
- Sifi A., Adi-Bessalem S.; Laraba-Djebari F., 2017. Role of angiotensin II and angiotensin type-1 receptor in scorpion venom-induced cardiac and aortic tissue inflammation. *Experimental and molecular pathology*. 102(1):32-40. Epub 2016/12/14.
- Sifi, A., Adi-Bessalem, S., Laraba-Djebari, F., 2018. Development of a new approach of immunotherapy against scorpion envenoming: Avian IgYs an alternative to equine IgGs. *International immunopharmacology*, 61, 256-265.
- Sifi, A., Adi-Bessalem, S., Laraba-Djebari, F., 2020. Involvement of the endothelin receptor type A in the cardiovascular inflammatory response following scorpion envenomation. *Toxins*, 12(6), 389.
- Sik, B., Hanczné, E. L., Kapcsándi, V., Ajtony, Z., 2020. Conventional and nonconventional extraction techniques for optimal extraction processes of rosmarinic acid from six Lamiaceae plants as determined by HPLC-DAD measurement. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 184, 113173.
- Sivaraj Sivaraj, D., Ponnusamy, R., Chandran, R., Thangaraj, P., 2018. Centipede Envenomation Effects on Human Beings and Scientific Research on Traditional Antivenom Agents: *Aristolochia* and *Piper* sp. In *Medicinal Plants* (pp. 73-88). CRC Press.
- Skuhrová, M., Skuhrový, V., Salemkour, N., Chauche, S. T., 2020. Gall midges (Diptera: Cecidomyiidae) of Algeria. *Acta Soc. Zool. Bohem*, 84, 67-92.

Références bibliographiques

- Sofer, S., Zucker, N., Bilenko, N., Levitas, A., Zalstein, E., 2013. The importance of early bedside echocardiography in children with scorpion envenomation. *Toxicon*, 68, 1-8.
- Soleglad, L.E., Fet, V., 2003. Phylogeny of the Extant Scorpions. *Euscorpius*, 11,1-175.
- Sonfack, G., Fossi Tchinda, C., Simo, I. K., Bitchagno, G. T. M., Nganou, B. K., Çelik, İ., Tane, P., 2021. Saponin with antibacterial activity from the roots of *Albizia adianthifolia*. *Natural Product Research*, 35(17), 2831-2839.
- Sotnikova, R., Kettmann, V., Kostalova, D., Taborska, E., 1997. Relaxant properties of some aporphine alkaloids from *Mahonia aquifolium*. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol*, 19, 589–597.
- Souilah, N., Medjroubi, K., 2018. Etude de la composition chimique et des propriétés thérapeutiques traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques espèces du Nord-est algérien (Doctoral dissertation, Université ALikhwa mantouri kastantina).
- Soulaymani, R., Semlali, I., Skali, S., Derkaoui, K.N., Ouakrim, A., Hanchi, S., 2000. Stratégie nationale de lutte contre la mortalité et la morbidité des piqûres de scorpion. Guide à l'usage des professionnels de santé. C. antip. Maroc.34p.
- Soulaymani-Bencheikh, R., Faraj, Z., Semlali, I., Khattabi, A., Skalli, S., Benkirane, R., Badri, M., 2002. Epidémiologie des piqûres de scorpion au Maroc. *Rev. Epidemiol.Santé Publique*, 5, 341–347.
- Soulaymani, B., Khattabi, A., Semlali, I., Mokhtari, A., Oufir, R., Soulaymani, A., 2007. Situation épidémiologique des piqûres de scorpion au Maroc 2004 : Cartes d'incidence, de létalité et de mortalité selon les régions. *Soc. Med. Mil. Path. Faune Flore*.
- Soulaymani, B.R., Soulaymani, A., Semlali, I., Tamim, O.K., Zemrour, F., El Oufir, R., 2005. Les piqûres et les envenimations scorpioniques au niveau de la population de Kouribga (Maroc). *Bull. Soc. Patho. Exot*, 98 (5), 36-40.
- Soulaymani, B.R., 2009. Stratégie nationale de lutte contre les piqûres et les envenimations scorpioniques. *Revue Toxicologie Maroc*, 2-11.
- Soulaymani Bencheikh, R., El Oufir, Rh., 2009. Stratégie nationale de lutte contre les piqûres et les envenimations scorpioniques. *Revue Toxicologie Maroc*.2, 3-9.
- Sumere, B. R., de Souza, M. C., Dos Santos, M. P., Bezerra, R. M. N., da Cunha, D. T., Martinez, J., Rostagno, M. A., 2018. Combining pressurized liquids with ultrasound to improve the extraction of phenolic compounds from pomegranate peel (*Punica granatum L.*). *Ultrasonics sonochemistry*, 48, 151-162.
- Srairi-Abid, N., Othman, H., Aissaoui, D., BenAissa, R., 2019. Anti-tumoral effect of scorpion peptides: Emerging new cellular targets and signaling pathways. *Cell Calcium* 80, 160–174. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2019.05.003>
- Stockmann, R., 2015. *Introduction to Scorpion Biology and Ecology*. Springer.1-29.
- Stockmann, R., Ythier, E., 2010. *Scorpions of the world*".N.A.P. Editions, Verrières-le-Buisson, 572 pp.

- Tabuti, J.R.S., Lye, K.A., Dhillion, S.S., 2003. Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration. *J. Ethnopharmacol.* 88, 19-44.
- Tachikawa, E., Takahashi, M., Kashimoto, T., 2000. Effects of extracts and ingredients isolated from *Magnolia obovata* thunberg on catecholamine secretion from bovine adrenal chromaffin cells. *Biochem. Pharmacol.* 60, 433-440.
- Taha, M. M. E., Mohan, S., Khediash, H., Farasani, A., Abdelwahab, S. I., Hamali, H. A., Mobarki, A. A., 2020. Amelioration of Carbon Tetrachloride--Induced Liver Injury by p-Coumaric Acid. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 18(4), 337-343.
- Tahiri, S., Serge, A. M., Kouamé, D. B., 2022. Phytochemical composition, Antinociceptive and anti-inflammatory activities of ethanolic and aqueous stem bark extracts of *Pavetta owariensis* P. Beauv. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 11(1), 46-50.
- Tahri, N., El Basti, A., Zidane, L., Rochdi, A., Douira, A., 2012. Etude Ethnobotanique Des Plantes Medicinales Dans La Province De Settat (Maroc). *Journal of Forestry Faculty.* 12 (2), 192-208.
- Taïbi, K., Abderrahim, L. A., Ferhat, K., Betta, S., Taïbi, F., Bouraada, F., Boussaid, M., 2020. Ethnopharmacological study of natural products used for traditional cancer therapy in Algeria. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28(11), 1451-1465.
- Tamim, O.K., Soulaymani-Bencheikh, R., Soulaymani, A., Tayeb, I.M., Zemrour, F., Mokhtari, A., Semlali, I., El Oufir, G., 2006. Profil épidémiologique des piqûres et des envenimations scorpioniques au Maroc : Analyse du relevé mensuel (2001 à 2003). *Ouvrage : Santé, éducation et environnement*, p 128-141.
- Tamim, O.K., 2010. Scorpionisme, Épidémiologie et Facteurs de risque au Maroc : cas de la province de Khourigba. Thèse de Doctorat National, Université Ibn Tofail- Kénitra.
- Tariq M1, Ageel AM, al-Yahya MA, Mossa JS, al-Said MS. 1989. Anti-inflammatory activity of *Teucrium polium*. College of Pharmacy, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia. *International Journal of Tissue Reactions*, 11(4)185-188.
- Togola, I., Konaré, M. A., Diakité, M., Diarra, N., Tounkara, F., Sanogo, R., Dembélé, D., 2019. Evaluation de la teneur en alcaloïdes totaux à différents stades de développement de *Datura innoxia* Mill., une plante utilisée dans la médecine traditionnelle au Mali.
- Telli, A., Chedad, A., & Sadine, S. E., 2022. Ethnobotanical study of medicinal plants used for scorpion sting envenoming treatments in Algerian Septentrional Sahara. *International Journal of Environmental Studies*, 1-23.
- Thibane, V. S., Mudau, F. N., 2022. Herbal alkaloids in healthcare. In *Herbal Biomolecules in Healthcare Applications* (pp. 283-294). Academic Press.
- Touloun, O., Boumezzough A, Slimani, T., 2001. Epidemiological survey of scorpion envenomations in Southerwestern Morocco. *J. Venom. Anim. Toxins.* 7, 199-218

Références bibliographiques

- Touloun, O., 2004. Les peuplements de scorpions du sud ouestmarocain: Ecologie, biogéographie et épidémiologie des envenimations”. Thèse Doc. Ecologie-Epidémiologie Université Cady Ayyad, Marrakech.
- Touloun, O., Boumezzough, A., Slimani, T., 2012. scorpion envenomation in the region of Marrakesh tensift alhaouz (morocco): epidemiological characterization and therapeutic approaches. *Serket*. 13(1-2), 38-50.
- Touloun, O., El Hidan, M.A., Boumezzough, A., 2016. All rights reserved. Species composition and geographical distribution of Saharan scorpion fauna, Morocco Faunal research. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 1808(16), 61150-7.
- Touloun, 2019. Liste actualisée et commentée de la faune scorpionique du Maroc (Arachnida: Scorpiones). *Revista Ibérica de Aracnología*, 34,126-132.
- Touloun, O., Moudden, N., 2021. Morphological Identification and Geographical Distribution of Scorpions in Azilal Province (Morocco), *Agricultural Science Digest*. D-284. 10.18805/ag.D-284.
- Tugume, P., Nyakoojo, C., 2019. Ethno-pharmacological survey of herbal remedies used in the treatment of paediatric diseases in Buhunga parish, Rukungiri District, Uganda. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 1-10.
- Tunit, P., Thammarat, P., Okonogi, S., Chittasupho, C., 2022. Hydrogel Containing *Borassus flabellifer* L. Male Flower Extract for Antioxidant, Antimicrobial, and Anti-Inflammatory Activity. *Gels*, 8(2), 126.
- Ulusoy, H. G., Sanlier, N., 2020. A minireview of quercetin: from its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. *Critical reviews in food science and nutrition*, 60(19), 3290-3303.
- Vachon, M., 1952. Etude sur les scorpions- Institut Pasteur d’Algérie. Ed. Alger, 487p.
- Valnet, J. 2001. Health through fruit, vegetables and cereals, fourth ed. Vigot.
- Vaucel, J. A., Larréché, S., Paradis, C., Courtois, A., Pujo, J. M., Elenga, N., French PCC Research group. 2022. Les envenimations scorpioniques en France métropolitaine et d’Outremer: mise au point. *Toxicologie Analytique et Clinique*.
- Verpoorte, R., Contin, A., Memelink, J., 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochem. Rev*, 1, 13–25.
- Vincent, C., 2002. Le scorpion des sables, sourd, aveugle mais fin chasseur. *Le monde*, 28 Janvier.
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., Junior, M. R. M., 2019. Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In *Bioactive compounds* (pp. 33-50). Woodhead Publishing.
- W.H.O. (World Health Organization). 2001. Relevé épidémiologique hebdomadaire Organisation Mondiale De La Santé Genève ,76, 289–300. <http://www.who.int/wer>

- Ward, M.J., Ellsworth, S.A., Nystrom, G.S., 2018. A global accounting of medically significant scorpions: epidemiology, major toxins, and comparative resources in harmless counterparts. *Toxicon* 151, 137–155. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.07.007>.
- Wichtl, M., Anton, R., 2009. *Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Éd Lavoisier, Paris: 38, 41p.
- World Health Organization (WHO), 1981. *Progress in the Characterization of Venoms and Standardization of Antivenoms*; WHO. Geneva, Switzerland.
- Xiao, X., Ma, X. L., Wang, L. G., Long, F., Li, T. T., Zhou, X. T., Yu, H. Q., 2021. Anaerobic reduction of high-polarity nitroaromatic compounds by electrochemically active bacteria: Roles of Mtr respiratory pathway, molecular polarity, mediator and membrane permeability. *Environmental Pollution*, 268, 115943.
- Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., Cui, Y. L. , 2019. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules*, 24(6), 1123.
- Yadav, V., Krishnan, A., Vohora, D., 2020. A systematic review on *Piper longum L.*: Bridging traditional knowledge and pharmacological evidence for future translational research. *Journal of ethnopharmacology*, 247, 112255.
- Yazdkhasti, M., Razi Jalali, M., Khadjeh, G. H., Jafari, H., Rezaie, A., 2021. Cardiotoxic Effects of Hemiscorpius Lepturus Scorpion Venom Fractions in Rats. *Iranian Journal of Toxicology*, 15(1), 27-36.
- Yangthong, M., Hutadilok-TowatanaN., Phromkunthong. W., 2009. Antioxidant activities of four edible seaweeds from the southerncoast of Thailand. *Plant Foods Human Nutr.* 64, 218–223.
- Yesilada E., Sezik E., 2003. *A survey on the traditional medicine in Turkey: semi-quantitative evaluation of the results*, seventh ed. Studium Press, LLC, Houston, Texas.
- Yesilada, E., Küpeli, E., 2007. *Clematis vitalba L. aerial part exhibits potent antiinflammatory, antinociceptive and antipyretic effects*. *J. Ethnopharmacol*, 110, 504–515.
- Younis, W., Asif, H., Sharif, A., Riaz, H., Bukhari, I. A., Assiri, A. M., 2018. Traditional medicinal plants used for respiratory disorders in Pakistan: a review of the ethno-medicinal and pharmacological evidence. *Chinese medicine*, 13(1), 1-29.
- Yimer, T., Birru, E. M., Adugna, M., Geta, M., Emiru, Y. K., 2020. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activities of 80% methanol root extract of *Echinops kebericho* M.(Asteraceae). *Journal of Inflammation Research*, 13, 647.
- Yu, M., Gouvinhas, I., Rocha, J., Barros, A. I., 2021. Phytochemical and antioxidant analysis of medicinal and food plants towards bioactive food and pharmaceutical resources. *Scientific reports*, 11(1), 1-14.
- Yuan, Y., Zhang, J., Fan, J., Clark, J., Shen, P., Li, Y., Zhang, C., 2018. Microwave assisted extraction of phenolic compounds from four economic brown macroalgae species and

- evaluation of their antioxidant activities and inhibitory effects on α -amylase, α -glucosidase, pancreatic lipase and tyrosinase. *Food Research International*, 113, 288-297.
- Zahaf, K., 2019. Etude phytochimique et évaluation de l'activité anticorrosion des extraits des plantes *Thapsia garganica L et Marrubium vulgare*. Mémoire, Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi. Alger.
- Zhao, J., Maitituersun, A., Li, C., Li, Q., Xu, F., Liu, T., 2018. Evaluation on analgesic and anti-inflammatory activities of total flavonoids from *Juniperus sabina*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Zhang, X., Wang, X., Wang, M., Cao, J., Xiao, J., Wang, Q., 2019. Effects of different pretreatments on flavonoids and antioxidant activity of *Dryopteris erythrosora* leave. *PLoS one*, 14(1), e0200174.
- Zangiabadi, S., Navidpour, S., Zolfagharian, H., Eslampanah, M., Vaezi, G., 2020. Evaluation of the interference effect of cyclosporine and Mesobuthus scorpion venom on some biochemical and histological parameters in parenchymal tissue of liver and kidney of male mice. *Daneshvar Medicine*, 27(3), 49-58.
- Zangiabadi, S., Navidpour, S., Zolfagharian, H., Vaezi, G., 2020. Effects of Cyclosporine Therapy on Liver and Kidney Retrieval in Poisoned Male Rats by *Mesobuthus eupeus* Scorpion Venom. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 22(6).
- Zahalka, J-P., 2010. Les huiles essentielles : 230 huiles essentielles, 170 maux traités. Paris : Ed. Dauphin.
- Zbadi, R., Mohti, H., Moussaoui, F., 2018. Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine thérapeutique*, 24(2), 134-141.
- Zeng, S. L., Li, S. Z., Wei, M. Y., Chen, B. Z., Li, P., Zheng, G. D., Liu, E. H., 2018. Evaluation of anti-lipase activity and bioactive flavonoids in the *Citri Reticulatae Pericarpium* from different harvest time. *Phytomedicine*, 43, 103-109.
- Zeng, X., Xi, Y., Jiang, W., 2019. Protective roles of flavonoids and flavonoid-rich plant extracts against urolithiasis: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(13), 2125-2135.
- Zlotkine, E., Fraenkel, G., Miranda, F., Lissitzky, S., 1971. The effect of scorpion venom on blowfly larvae—a new method for the evaluation of scorpion venoms potency. *Toxicon*, 9 (1), 1-8.
- Zlotkin, E., Martinez, G., Rochat, H., Miranda, F., 1976. A protein from scorpion venom toxic to crustaceans. In: *Animal, plant and microbial toxins, Biochemistry*, A. Ohsaka et coll. eds., Plenum, NY 1(73-80), 555pp.
- Zwirschmayr, J., Seigner, J., Grienke, U., Mikros, E., de Martin, R., Rollinger, J. M., 2019. A biochemometric approach for the identification of anti-inflammatory coumarins from *Peucedanum ostruthium*. *Planta Medica*, 85(18), P-230.

Annexes

Questionnaire d'enquête ethnobotanique sur le traitement des envenimations scorpioniques

ENQUETE EPIDEMIOLOGIQUE SUR LE TRAITEMENT DES ENVENIMATIONS SCORPIONIQUES AU MAROC	
> Patient <input type="checkbox"/> Herboriste <input type="checkbox"/> (si herboriste passer à la question N°6)	
1. Enquêteur :	
• Nom et Prénom : Tel:..... • Profession : • Adresse :	
2. Renseignements sur le patient :	
• Nom et prénom : Sexe : <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M Age: • Adresse : Profession: • Niveau d'instruction: Niant <input type="checkbox"/> Primaire <input type="checkbox"/> Secondaire <input type="checkbox"/> Universitaire <input type="checkbox"/> • Partie du corps piquée :	
3. Identification du scorpion responsable :	
• Espèce : • Couleur générale : Dimensions(en cm) : Corps : Queue : • Forme des pinces : • Forme de la queue : • Autre description:	
4. Circonstances de l'accident :	
• Date de l'accident : Heure de l'accident : • Lieu de l'accident : Douar Commune Rurale: Province: • Activité <input type="checkbox"/> Sommeil <input type="checkbox"/> Autres : • Milieu environnant :	
5. Description du milieu(en cas de maison domiciliaire ou péri-domiciliaire) :	
• Milieu : Rural <input type="checkbox"/> Urbain <input type="checkbox"/> Périurbain <input type="checkbox"/> • Type de construction: Pisé <input type="checkbox"/> Béton armé <input type="checkbox"/> Autre <input type="checkbox"/> • Milieu environnant : Proximité : Oudua <input type="checkbox"/> Fumier <input type="checkbox"/> Végétation <input type="checkbox"/> Point d'eau <input type="checkbox"/> Autres : • Electrification: OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> • Proximité de l'éclairage public: Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Distance : • Hygiène générale : Faible <input type="checkbox"/> Moyen <input type="checkbox"/> Satisfaisant <input type="checkbox"/> Très Satisfaisant <input type="checkbox"/> • Elevage de prédateur de scorpions : Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Identification:	

6. Traitement au milieu hospitalier :

- Structure Sanitaire : Dispensaire Centre de santé Hôpital provincial Autre :.....
- Moyen de Transport :
- Distance entre le lieu de la piqure et la structure sanitaire :
- Délai d'hospitalisation :
- Type de traitement :
- Durée d'hospitalisation :

7. Recours au traitement traditionnel :

- Structure sanitaire inaccessible Absence de confiance à la médecine moderne Dans l'attente de l'application à la structure sanitaire la plus proche
- Le prescripteur: Guérisseur Herboriste ~~Flak~~ Prêcheur Autre:.....
- Description du traitement :
- Mode d'utilisation : Durée du traitement :

8. Traitement phytothérapeutique :

- Patient
- Herboriste

- Nom vernaculaire de la ou des plante(s): Français : Arabe : Berbère :
- Nom scientifique :
- Type de plante : Sauvage cultivée Adventice
- Etat de la plante : Fraîche Desséchée Après traitement
- Si desséchée, méthode de séchage :
- Partie de la plante utilisée: Partie aérienne Plante entière Fleurs Tige Feuille
Racine Bulbe Graines Fruit Écorce Non identifiée Autre:.....
- Durée du traitement :
- Forme d'emploi : Tisane Poudre Huile essentielles Huiles grasses Extrait
- Mode de préparation: Infusion Décoction Cataplasme Cru Cuite
- Quantité utilisée : Pincée Poignée Cuillerée
- Mode d'administration: Application localisée Pulvérisation Orale Non identifiée
- Autre :
- Posologie (Nombre de prises) :
- Précaution d'emploi :
- Effets secondaires :

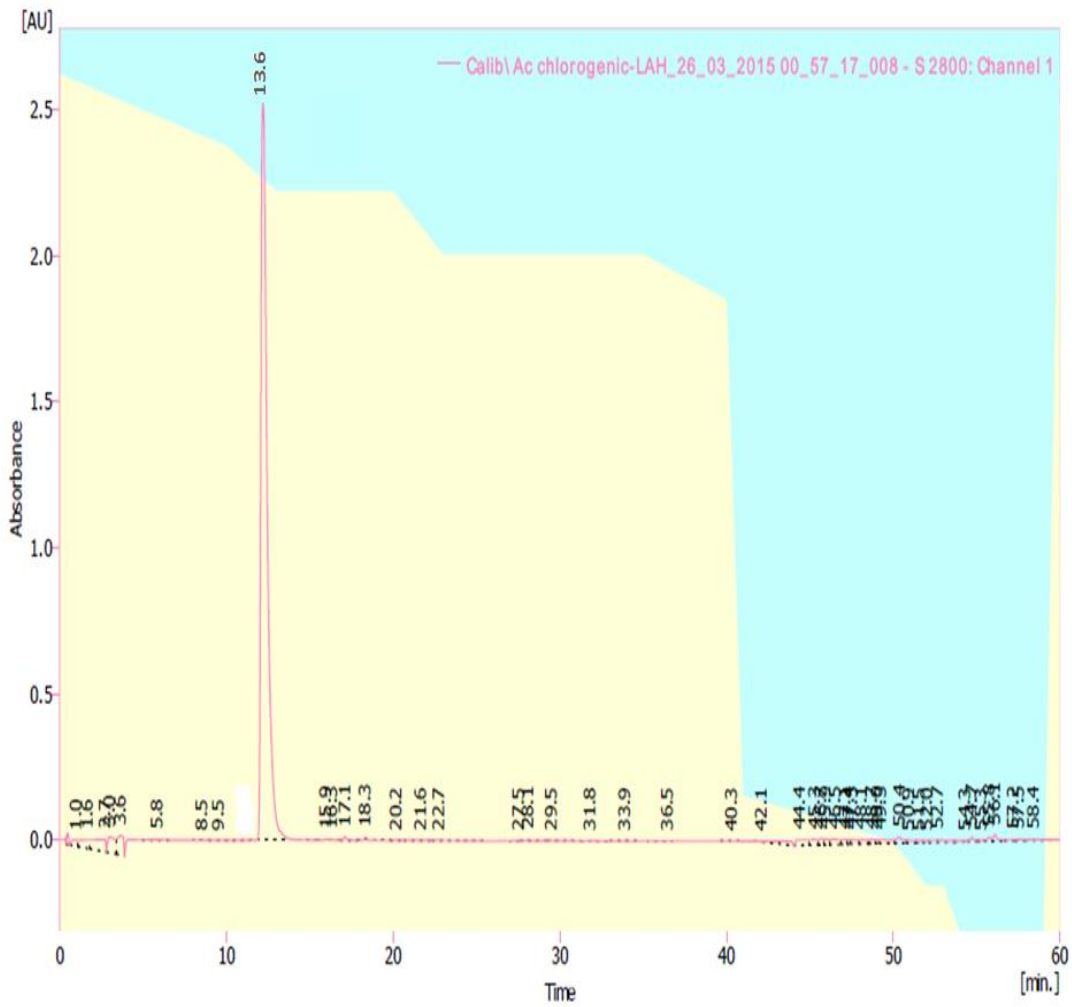


Figure 1 : Courbe du standard acide chlorogénique

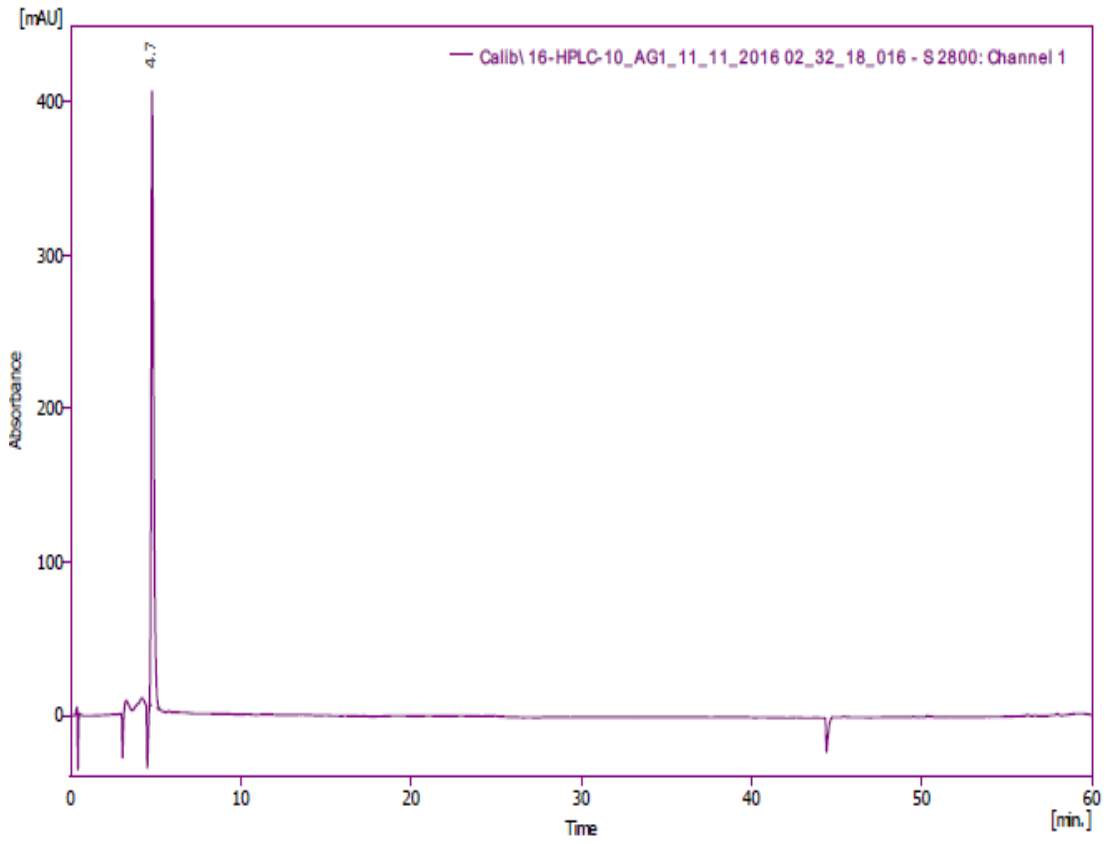


Figure 2 : Courbe du standard acide gallique

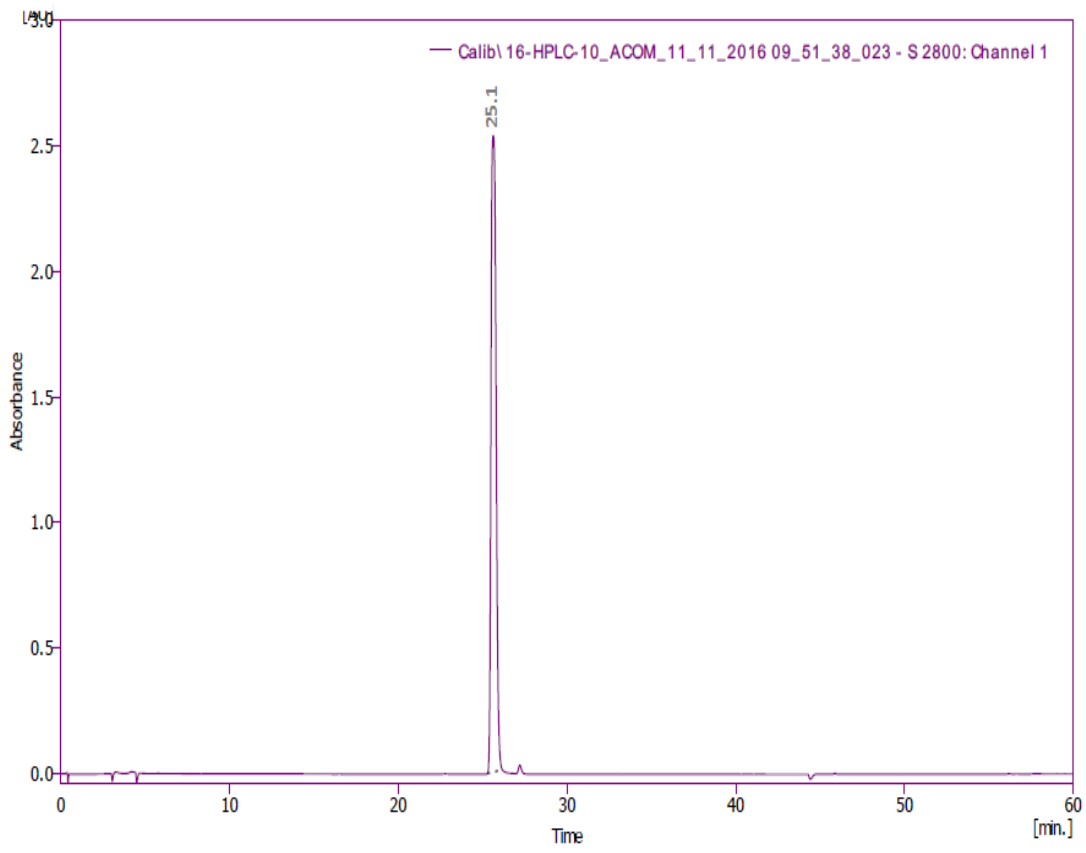


Figure 3 : Courbe du standard acide coumarique

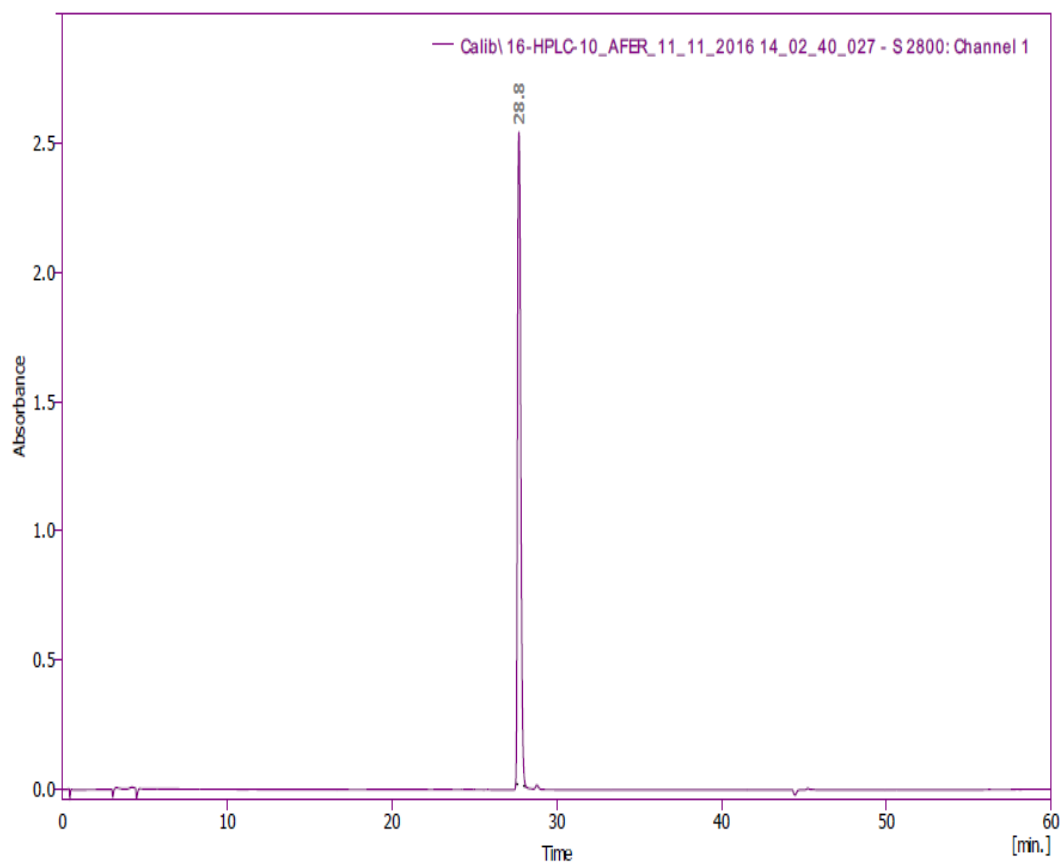


Figure 4 : Courbe du standard acide ferrique

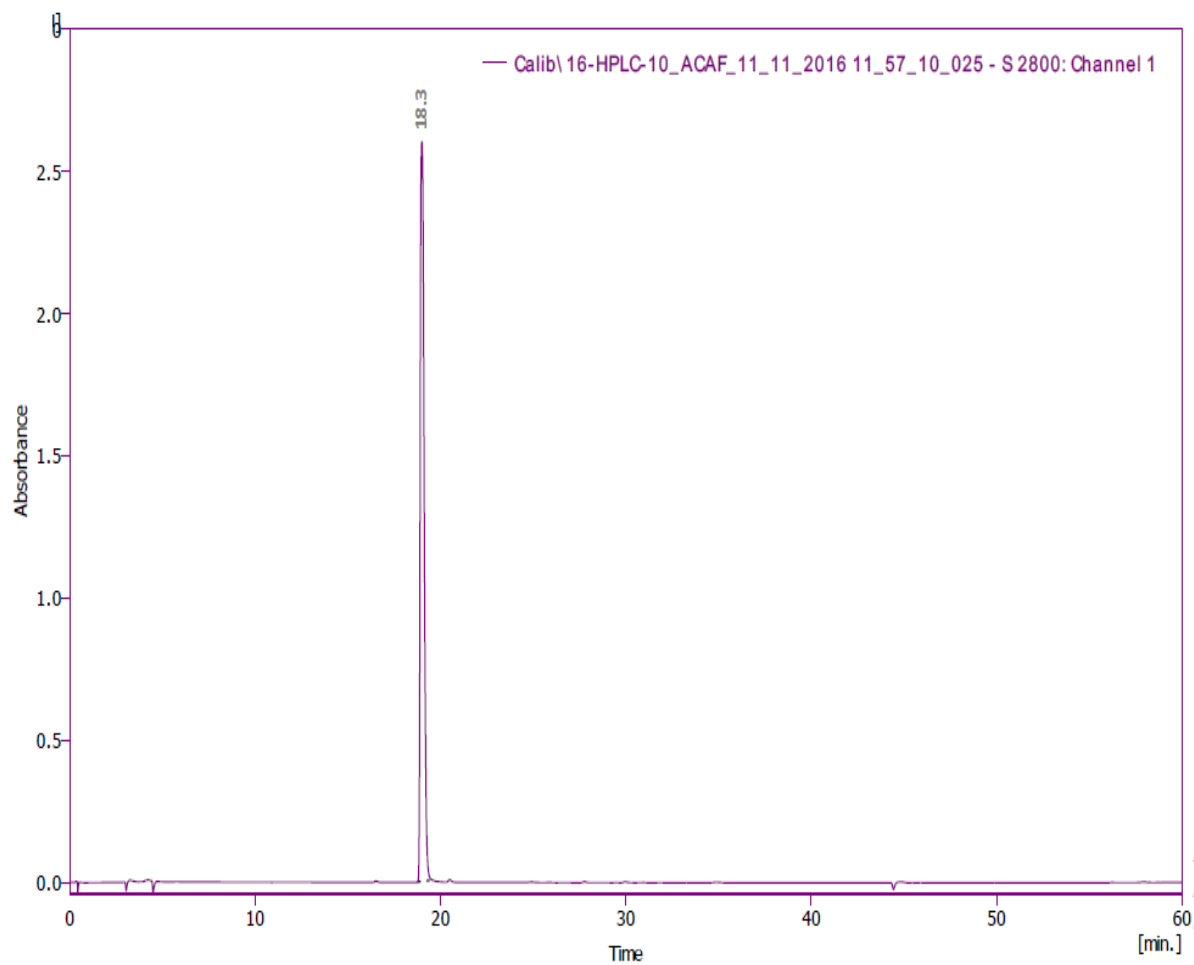


Figure 5 : Courbe du standard acide caféique

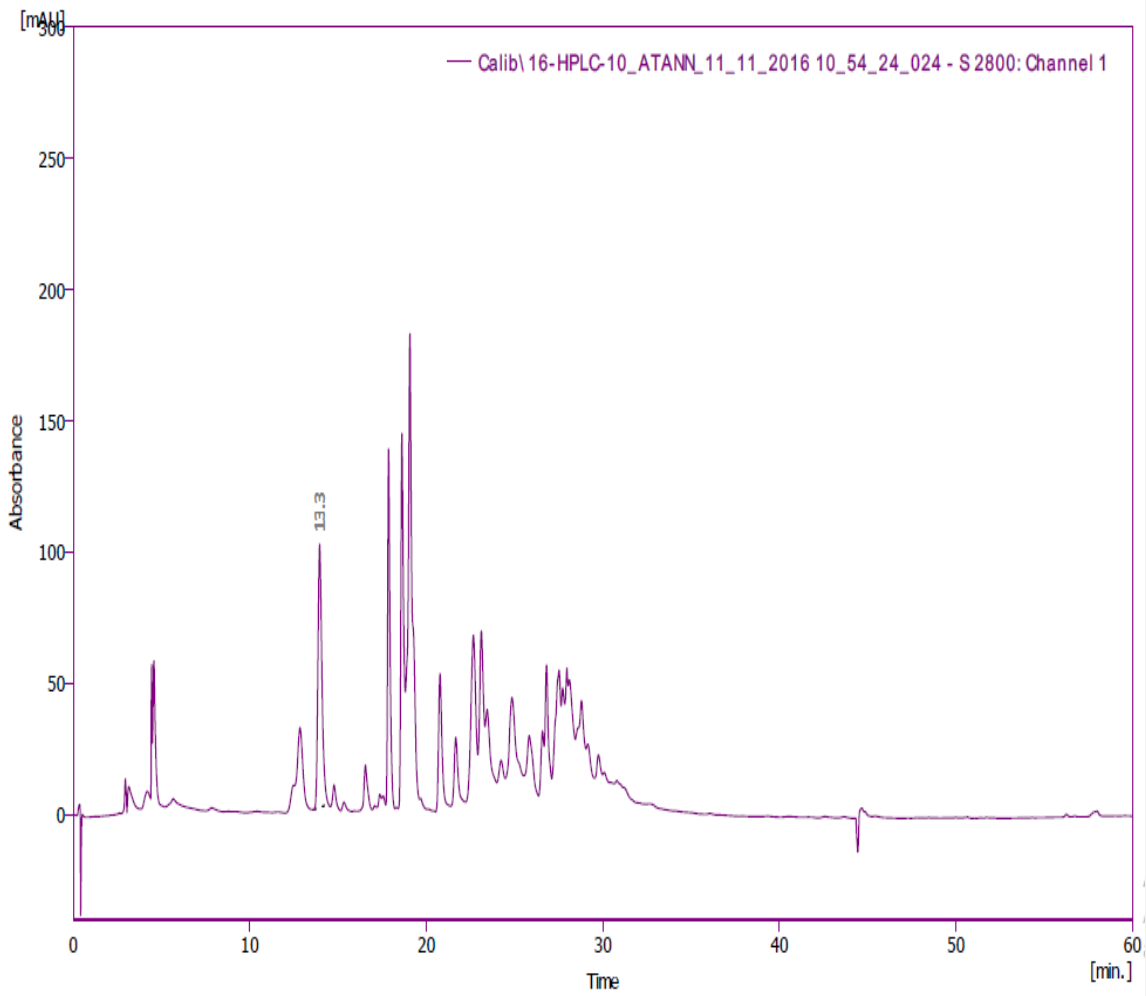


Figure 6 : Courbe du standard acide tannique

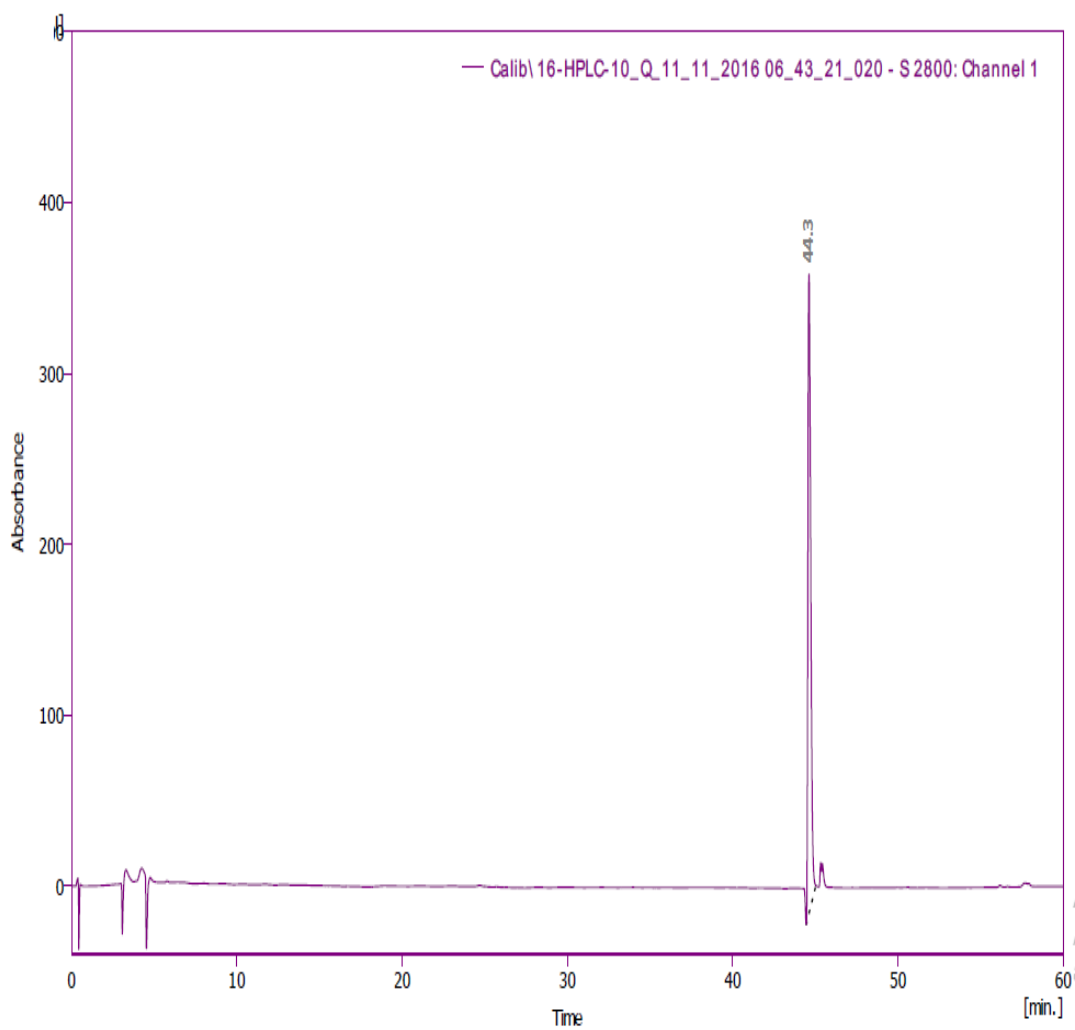


Figure 7 : Courbe du standard de la quercétine

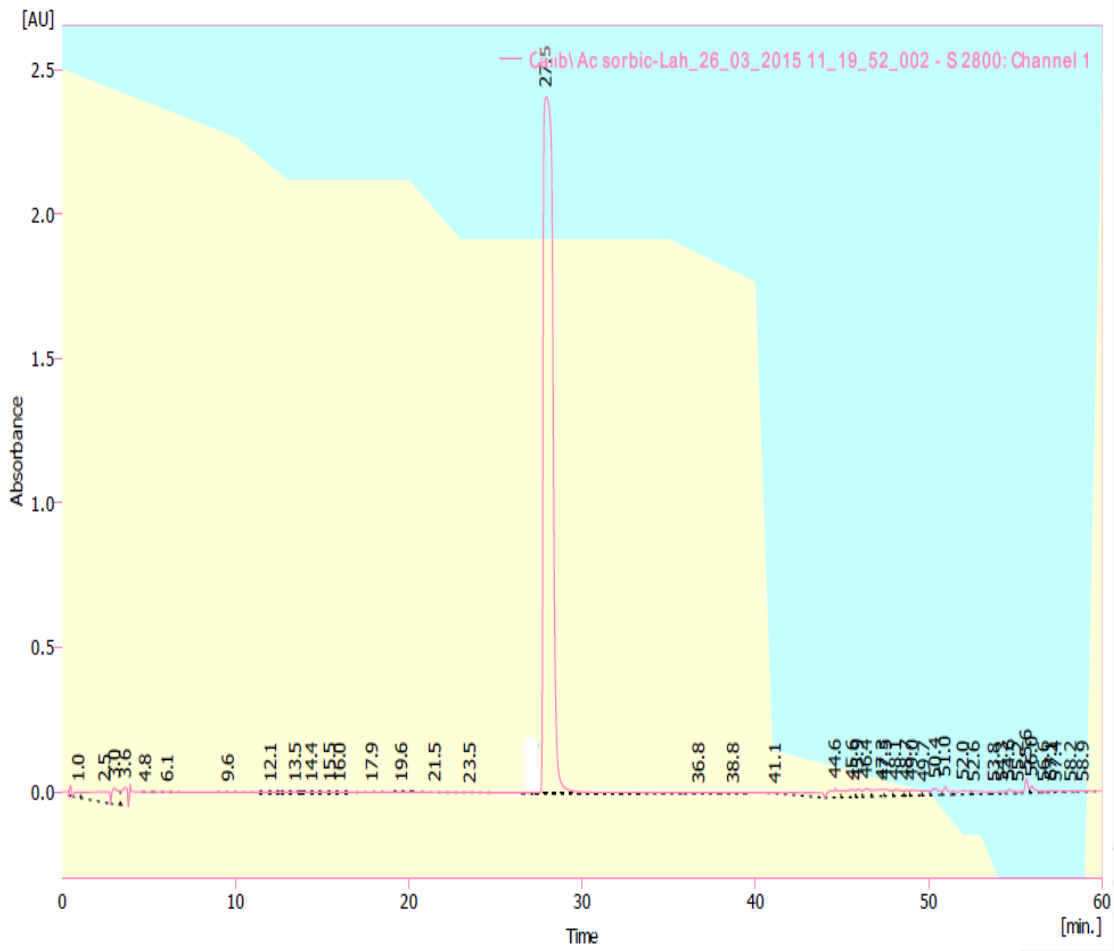


Figure 8 : Courbe du standard acide sorbique

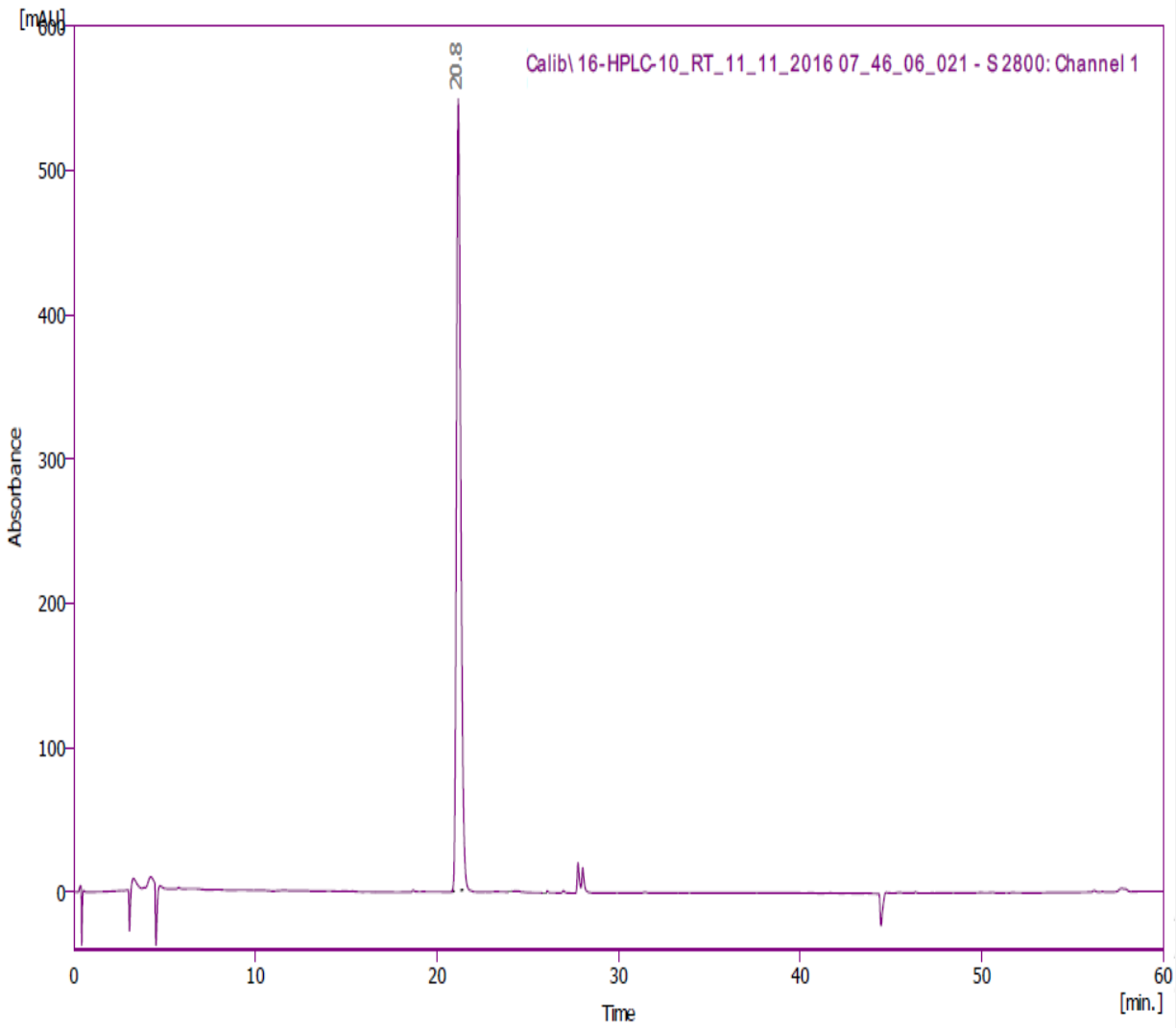


Figure 9 : Courbe du standard rutine