Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques de l'Ingénieur

N° d'ordre: 14 /2020

THESE DE DOCTORAT

Présentée par

Mr : MOHAMED CHEBAIBI

Spécialité : Santé et Environnement

Sujet de la thèse : Etude toxicologique des mixtures à base de plantes utilisées dans le traitement traditionnel des maladies rénales : de l'étude ethnopharmacologique à l'expérimentation animale

Formation Doctorale : Recherche biomédicale et translationnelle.

Thèse présentée et soutenue le jeudi 09 Juillet 2020 à 10h au Centre de conférences devant le jury composé de :

Nom Prénom	Titre	Etablissement	
Dalila BOUSTA	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mehraz de Fès	Présidente
Yassir BOUSLIMAN	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat	Rapporteur
Malika MAHJOUBI	PES	Faculté des Sciences de Meknès	Rapporteur
Samira EL FAKIR	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès	Rapporteur
Tarik SQALLI HOUSSAINI	PES	Centre hospitalier Hassan II de Fès	Examinateur
Amina BARI	PES	Faculté des Sciences Dhar El Mehraz de Fès	Examinateur
Laila CHBANI	PES	Centre hospitalier Hassan II de Fès	Examinateur
Sanae ACHOUR	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès	Directrice de thèse

Laboratoire d'accueil : Recherche Biomedicale et Translationnelle.

Etablissement : Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès.

Titre de la thèse : Etude toxicologique des mixtures à base de plantes utilisées dans le traitement traditionnel des maladies rénales : de l'étude ethnopharmacologique à l'expérimentation animale

Nom du candidat : Mohamed CHEBAIBI

Spécialité : Santé et environnement

Le but de notre travail est d'évaluer in vivo la toxicité des plantes et des mixtures de plantes utilisées au Maroc dans le traitement traditionnel des maladies rénales et d'autre part, de déterminer les molécules bioactives responsables de cette toxicité.

Dans une première partie, nous avons procédé à la collecte des plantes et des mixtures de plantes les plus prescrites par les herboristes dans la région de Fès-Meknès pour le traitement des maladies rénales, à l'aide d'une enquête ethnobotanique, tout en se basant sur un questionnaire pour explorer, d'une part, les caractères sociodémographiques et professionnels des herboristes et d'autre part, les données botaniques et pharmacologiques des plantes utilisées dans les mixtures. La deuxième partie de notre étude a été réservée à l'extraction de différentes molécules bioactives des mixtures par deux techniques telles que l'infusion et l'extraction par soxhlet. L'infusé de chaque mixture a été analysé par un criblage phytochimique, alors que les différentes fractions obtenues par soxhlet ont été analysées par HPLC-DAD. La dernière partie consiste à évaluer la toxicité aiguë et subaiguë de chaque mixture de plantes chez les rats Wistar. Dans ce sens nous avons administré les extraits aqueux de chaque mixture aux différents groupes des rats afin d'examiner l'état corporel et les signes de toxicité suite à une administration orale en aiguë et pendant 28 jours. Ensuite, des études biochimiques, hématologiques et histopathologiques ont été effectuées dans le but de déterminer les effets de l'extrait aqueux de chaque mixture sur ces paramètres. L'âge moyen des herboristes interrogés (13 femmes, 276 hommes) était de 47.01 ± 0.44 an. L'enquête ethnobotanique a révélé que les herboristes sont dans 19,7% des illettrés, et 57,09 % se réfèrent aux expériences de leurs parents pour la connaissance des propriétés et des indications thérapeutiques des plantes médicinales. 50.51% ont une expérience entre 7 ans et 12 ans. Les données botaniques ont révélé que 69 espèces de plantes appartenant à 38 familles botaniques ont été prescrites par les herboristes pour le traitement des maladies. Le screening toxicologique de l'extrait aqueux de la première mixture a révélé la présence de tanins catéchiques, galliques, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de glycosides cardiaques et de Mucilage. Alors que le criblage phytochimique de M2 a révélé la présence de tanins catéchiques, galliques, saponines, flavonoïdes, leucoanthocyanes, catéchols, coumarines, alcaloïdes, glycosides cardiaques et mucilages. L'évaluation de la toxicité aiguë et subaiguë a révélé des effets toxiques de l'extrait aqueux des deux mixtures sur les paramètres biochimiques tels que les paramètres sériques hépatiques (ALAT, ASAT et ALP) et sur le taux des paramètres sériques rénales (créatinine et urée). De même pour le profil lipidique et les électrolytes ont présenté des changements significatifs. L'administration de l'extrait aqueux des mixtures ont présenté aussi des effets toxiques sur le système hématopoïétique par le changement significatif de plusieurs paramètres hématologiques (nombre des globules rouges, nombre des globules blancs, taux d'hémoglobine…). Au niveau histologique, l'effet toxique des mixtures s'exprime par plusieurs infiltrats inflammatoires de type lymphocytaire, plasmocytaire et éosinophilique dans la veine porte du foie, tandis que le rein n'a présenté aucun changement sur l'architecture normale rénale.

Mots-clés : Maladies rénales, Herboristes, Fès-Meknès, Mixtures de plantes, Enquête ethnopharmacologique, Screening toxicologique, Toxicité aiguë, Toxicité subaiguë

Dédicace

A mes chers parents, pour leur amour, leur soutien et tous leurs sacrifices qui représentent pour moi le pilier de tous mes efforts.

Qu'ils trouvent dans ce travail une récompense des espoirs qu'ils ont su mettre en moi

A ma femme Hind, sans ton aide, rien de cela n'aurait été possible

A mon fils Imrane

A mon cher frère et mes chères sœurs

A tous ceux qui me sont chers. . . .

Remerciements

En premier lieu et avant tout je tiens à remercier DIEU le tout puissant qui m'avoir donné le courage, la patience et la force de terminer ce travail.

Les travaux de thèse présentés dans ce manuscrit ont été effectués au sein du Laboratoire de Recherche Biomédicale et Translationnelle à la faculté de médecine et de pharmacie de Fès, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah-Fès et au Laboratoire Central des Analyses Médicales au centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès (CHU-Fès), sous la direction du professeur **ACHOUR Sanae**, ainsi que au Laboratoire de Neuroendocrinologie et Environnement Nutritionnel et Climatique (LANENC) à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah-Fès, sous La direction du Professeur **BOUSTA Dalila**.

Je tiens d'abord à remercier ma directrice de thèse Madame **ACHOUR Sanae**, Professeur d'enseignement supérieur en Toxicologie à la faculté de médecine et de pharmacie de Fès qui a bien voulu m'accueillir dans son laboratoire et dans son équipe pendant ce projet et m'avoir fait l'honneur de diriger ces travaux de recherche durant lesquels elle m'a offert sa confiance, ses conseils qui m'ont été d'une aide précieuse et le soutien moral qu'elle a su m'apporter tout au long de ce parcours, tout en restant l'exemple absolu du travailleur infatigable, avec un sens aigu pour le détail, ce qui m'a toujours motivé pendant ce travail. Il s'est d'autant plus investi, en me permettant d'acquérir une expérience unique de recherche en toxicologie. De plus, mes sincères remerciements à Madame **BOUSTA Dalila**, professeur d'enseignement supérieur à la faculté des sciences Dhar El Mehraz de Fès (FSDM -Fès) qui m'a soutenu également durant tout ce projet par ses conseils et son optimisme. L'ambiance qu'il fait régner dans son laboratoire a de plus grandement contribué au maintien de ma motivation et au plaisir de travailler avec elle.

Mes remerciements vont également et d'une façon particulière à Professeur **CHBANI Laila**, Professeur d'enseignement supérieur à la faculté de médecine et de pharmacie de Fès (FMP-Fès) et le chef du laboratoire d'anatomie pathologie (ANAPATH) au laboratoire central des analyses médicales au centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès, pour son accueil dans son laboratoire et ses orientations et son aide malgré son occupation. Je voudrais également remercier Monsieur **SAQUALLI HASSANI Tariq**, Professeur d'enseignement supérieur en Néphrologie à la faculté de médecine et de pharmacie de Fès (FMP-Fès) et le chef de service de néphrologie au centre hospitalier universitaire Hassan II de Fès pour son aide et ses orientations et de m'avoir honoré en acceptant la présidence de de ce jury de thèse.

Mes remerciements vont à Monsieur **NAJDI Adil**, Professeur d'épidémiologie à la faculté de médecine et de pharmacie de Tanger (FMP - Tanger) et à Monsieur **ATTARI Ahmed,** assistant médical au laboratoire de pharmaco-toxicologie de CHU de Fès.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur **BOUSLIMAN Yassir**, Professeur de toxicologie à la Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Madame **Mahjoubi Malika**, Professeur à la Faculté des Sciences de Meknès, Madame **Bari Amina**, Professeur à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz et Madame **El Fakir Samira**, Professeur à la Faculté de médecine et de pharmacie de Fès qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à tous mes collègues et mes amis du laboratoire de pharmaco-toxicologie de CHU Hassan II de Fès, biochimie de CHU Hassan II de Fès, biochimie de FMP de Fès, LANENC, ANAPATH et la FST de Fès pour les services et les conseils. Merci à vous tous.

Mes plus profonds remerciements vont à mes parents. Tout au long de mon cursus, ils m'ont toujours soutenu, encouragé et aidé. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude. En fin, je voudrais remercie ma femme Hind et mon fils Imrane, qu'ont survécu aux aléas d'un mari et d'un père préoccupé et souvent absent.

En terminant, je souhaite démontrer ma plus sincère gratitude à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

Merci à tous !

M. CHEBAIBI

Liste des figures

Figure 1: Schéma montrant l'appareil urinaire 10
Figure 2 : Schéma de la vascularisation interne du rein 11
Figure 3 : Schéma des différents constituants du néphron 12
Figure 4: Mécanisme physiopathologique de la formation d'œdème dans le syndrome néphrotique ... 14
Figure 5: Structure de barrière de filtration glomérulaire et évacuation des globules rouges conduisant à une hématurie 15
Figure 6: Mécanisme de lithogenèse 20
Figure 7: *Herniaria glabra* L. 23
Figure 8: Feuilles et fruits de *Zizyphus lotus* 25
Figure 9: Figuier de Barbarie : la plante et les fleurs 27
Figure 10 : *Ammodaucus leucotrichus* : plante et fruits 29
Figure 11 : *Petroselinum crispum* 31
Figure 12 : *Chamaemelum nobile* 33
Figure 13: Planche botanique de *Rosmarinus officinalis* 36
Figure 14: Planche de *lavandula officinalis* 38
Figure 15: Racines des deux plantes médicinales utilisées dans la phytothérapie traditionnelle chinoise appelées «fang ji»: a) *Aristolochia fangchi* et b) *Stephania tetrandra* 40
Figure 16: Structure chimique de l'atractyloside 41
Figure 17: Fleur de *Callilepis laureola* 41
Figure 18: *Uncaria tomentosa* (Feuilles) 42
Figure 19: *Glycyrrhiza glabra* (plante et racines) 42
Figure 20: Schéma d'un extracteur soxhlet. 46
Figure 21: Extracteur assisté par ultrason 47
Figure 22: Système d'extraction Likens-Nickerson 48
Figure 23: Schéma de principe d'un spectrophotomètre à double faisceau 50
Figure 24: Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse 51
Figure 25: Principe de fonctionnement d'un chromatographe HPLC 52
Figure 26: Principe de fonctionnement d'un LC-MS 52
Figure 27: Arbre phylogénétique représentant les relations entre 28 espèces de vertébrés 54
Figure 28: Carte du Maroc avec localisation de la zone d'étude 59
Figure 29: Mixture de plantes (M1) 63
Figure 30: Mixture des plantes (M2) 64
Figure 31: Différents solvants utilisés dans le système soxhlet 65

Figure 32: Fixation de la pièce 74
Figure 33: Examen macroscopique : (A) le rein, (B) le foie 74
Figure 34: Inclusion des fragments dans les cassettes 75
Figure 35: Automate d'inclusion 76
Figure 36: Enrobage dans la paraffine 77
Figure 37: Microtomie des coupes histologiques 77
Figure 38: Automate de coloration 79
Figure 39: Lames montées et colorées 79
Figure 40: Fréquence de la partie de la plante la plus utilisée par les herboristes dans la région de Fès Meknès pour le traitement des maladies rénales 83
Figure 41: Fréquence des modes d'utilisations les plus cités par les herboristes dans la région de Fès Meknès pour le traitement des maladies rénales 84
Figure 42: Fréquence d'utilisation des plantes par les herboristes dans la région de Fès Meknès pour le traitement des maladies rénales 84
Figure 43: Chromatogrammes d'analyse des standards par HPLC-DAD et leurs spectres d'absorption 103
Figure 44: Chromatogramme des composés chimiques de M1 détectés par HPLC-DAD 104
Figure 45: Chromatogramme des composés chimiques de M2 détectés par HPLC-DAD 106
Figure 46: Effets de l'administration aiguë de l'extrait aqueux de M1 sur le poids corporel des rats après 14 jours de traitement. 108
Figure 47: Poids relatifs des organes des reins (A), du foie (B) et de la rate (C) des rats après 14 jours de traitement avec l'extrait aqueux de M1 110
Figure 48: Poids relatifs des organes des reins (A), du foie (B) et de la rate (C) des rats après 14 jours de traitement avec l'extrait aqueux de M2 111
Figure 49: Effet de l'extrait aqueux de M1 sur les paramètres hématologiques du rat après 14 jours de traitement avec l'extrait aqueux du mélange. 118
Figure 50: Effet de l'extrait aqueux de M2 sur les paramètres hématologiques du rat après 14 jours de traitement avec l'extrait aqueux de M2. 121
Figure 51: Effet de l'administration aiguë d'extrait aqueux de mixture M1 sur le tissu hépatique des rats 123
Figure 52: Effet de l'administration aiguë d'extrait aqueux de la mixture M2 sur le tissu du foie des rats 125
Figure 53: Effet de l'administration aiguë d'extrait aqueux de la mixture M1 sur le tissu rénal des rats 126

Figure 54: Effet de l’administration aiguë d'extrait aqueux de la mixture M2 sur le tissu rénal des rats 127
Figure 55: Effet de l'administration subaiguë de mixture M1 sur le tissu hépatique des rats 135
Figure 56: Effet de l'administration subaiguë de M2 sur le tissu hépatique des rats..... 136
Figure 57: Effet de l'administration subaiguë de l'extrait aqueux de deux mixtures sur l'histologie du rein..... 139

Liste des tableaux

Tableau 1: Principales fonctions du rein 13
Tableau 2 : Classification de la maladie rénale chronique et estimation du risque relatif de progression vers une IRT en fonction du DFG estimé (en ml/min/1.73 m^2) et de l'albuminurie (mg/g de créatinine) adaptée de (Levey et al., 2011)..... 17
Tableau 3: Principales plantes néphrotoxiques au Maroc 43
Tableau 4: Réactifs spécifiques et réactions du criblage phytochimique 48
Tableau 5: Répartition du nombre des herboristes en fonction des régions 59
Tableau 6: Gradient d'élution 70
Tableau 7: Paramètres biochimiques sériques selon le profil hépatique, le profil rénal, le profil lipidique et les électrolytes 72
Tableau 8: Répartition des herboristes selon les caractéristiques sociodémographiques des herboristes 81
Tableau 9: Répartition des herboristes selon les caractéristiques professionnelles des herboristes 82
Tableau 10: Liste des plantes médicinales utilisées par les herboristes dans la région de Fès Meknès pour le traitement des maladies rénales 86
Tableau 11: Niveaux de fidélité et ordres de classement prioritaires pour les principales espèces de plantes et leurs principales utilisations. 91
Tableau 12: Facteur de consensus des informateurs des catégories d'affections..... 93
Tableau 13: Association entre les connaissances sur les plantes toxiques et les caractéristiques sociodémographiques des herboristes 94
Tableau 14: Liste des mixtures citées par les herboristes dans la région de Fès Meknès pour le traitement des maladies rénales 95
Tableau 15: Screening phytochimique de l'extrait aqueux de la M1 97
Tableau 16: screening phytochimique de l'extrait aqueux de M2 97
Tableau 17: Analyse des standards par HPLC-DAD 99
Tableau 18: Composés chimiques identifiés dans les différents extraits de M1 105
Tableau 19: Composés chimiques identifiés dans les différents extraits de M2 107
Tableau 20: Résultats de l'observation des animaux pendant les premières 24 heures et chaque jour pendant 14 jours après l'administration orale de l'extrait aqueux du M2 109
Tableau 21: Effets de l'administration aiguë de l'extrait aqueux de M2 sur le poids corporel des rats après 14 jours de traitement..... 109
Tableau 22: Effet de l'extrait aqueux de M1 sur les paramètres biochimiques des rats. 112
Tableau 23: Effet de l'extrait aqueux de M2 sur les paramètres biochimiques des rats. 113

Tableau 24: Principaux singes de toxicité recherchés après une administration subaiguë de deux mixtures 128
Tableau 25: Effet de l'administration subaiguë de M1 et M2 sur le poids corporel des rats 129
Tableau 26: Effet de l'administration subaiguë de deux mixtures sur le poids relatif des organes des rats 130
Tableau 27: Effet de l'administration subaiguë de deux Mixtures sur les paramètres biochimiques des rats 132
Tableau 28: Effet de l'administration subaiguë de la première et deuxième mixture sur les paramètres hématologiques des rats 133

Liste des abréviations

A

ALAT: Alanine aminotransférase

ALP: Phosphatase alcaline

ASAT: aspartate aminotransférases

C

CA: corps apoptotiques

CAPM: Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc

CB: canaux biliaires

CCM: Chromatographie sur couche mince

CHU: centre hospitalier universitaire

CN: colique néphrétique

CPG: Chromatographie en phase gazeuse

CV: veine centrale

D

DFGe: débit de filtration glomérulaire estimé

E

EDTA: Éthylènediaminetétraacétique

EI: infiltrat éosinophilique

F

Fic: Facteur de consensus des informateurs

FL: Niveau de fidélité

FUV: valeur d'usage de la famille botanique

G

GGT: Gamma glutamyl transpeptidase

H

H: hépatocytes

Hb: hémoglobine

HES: hématoxyline-éosine-safran

HP: artère hépatique

HPLC: Chromatographie en phase liquide à haute performance

I

IN

Infiltrat neutrophilique

IRA

insuffisance rénale aiguë

L

LC-MS

chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse

LI: infiltrat lymphocytaire

M

M1: Première mixture

M2: Deuxième mixture

Maremar: Maladies rénales chroniques au Maroc

MCH: hémoglobine corpusculaire moyenne

MCHC: concentration en MCH

MCV: volume corpusculaire moyen

MRC: maladie rénale chronique

MT: médecine traditionnelle

N

NFS: numération de la formule sanguine

NHS: sinusoïdes hépatiques normaux

O

OMS: Organisation mondiale de la santé

P

PAM: Plantes aromatiques et médicinales

PI: Infiltrat plasmocytaire

R

RMN: Résonance magnétique nucléaire

ROP: Priorité de classement

ROW: Relative organes weight

RP: Popularité relative

S

SD: Sinusoïdes hépatiques dilatés

SEM: Stetard Error of the Mean

U

UV: Valeur d'usage

V

V: Veine

RÉSUMÉ

Malgré le développement de la médecine moderne, elle reste encore incapable de guérir toutes les maladies surtout les maladies graves ou chroniques. Elle reste également inaccessible par son cout souvent élevé. Ces problèmes cèdent la place à la médecine traditionnelle représentée par les herboristes et les tradipraticiens qui soignent une large population par les plantes médicinales, en tirant parti de plusieurs facteurs tels que l'illettrisme, les revenus limités et les facteurs socioculturels de cette population.

Il est vrai que les plantes médicinales sont à l'origine de plusieurs médicaments. D'ailleurs, plusieurs études scientifiques à ce sujet ont démontré l'efficacité des molécules bioactives d'origine végétale dans le traitement de plusieurs maladies. Mais le problème de dose et de toxicité reste la véritable cause de décès en médecine traditionnelle. En outre, la toxicité devient plus complexe lorsque les plantes médicinales sont utilisées en mélange, à cause de la synergie entre les différentes molécules bioactives présentées dans le mélange. Le but de notre travail est d'évaluer *in vivo* la toxicité des plantes et des mixtures de plantes utilisées au Maroc dans le traitement traditionnel des maladies rénales et d'autre part, de déterminer les molécules bioactives responsables de cette toxicité.

Dans une première partie, nous avons procédé à la collecte des plantes et des mixtures de plantes les plus prescrites par les herboristes dans la région de Fès-Meknès pour le traitement des maladies rénales, à l'aide d'une enquête ethnobotanique, tout en se basant sur un questionnaire pour explorer, d'une part, les caractères sociodémographiques et professionnels des herboristes et d'autre part, les données botaniques et pharmacologiques des plantes utilisées dans les mixtures. La deuxième partie de notre étude a été réservée à l'extraction de différentes molécules bioactives des mixtures par deux techniques telles que l'infusion et l'extraction par soxhlet. L'infusé de chaque mixture a été analysé par un criblage phytochimique, alors que les différentes fractions obtenues par soxhlet ont été analysées par HPLC-DAD. La dernière partie consiste à évaluer la toxicité aiguë et subaiguë de chaque mixture de plantes chez les rats Wistar. Dans ce sens nous avons administré les extraits aqueux de chaque mixture aux différents groupes des rats afin d'examiner l'état corporel et les signes de toxicité suite à une administration orale en aiguë et pendant 28 jours. Ensuite, des études biochimiques, hématologiques et histopathologiques ont été effectuées dans le but de déterminer les effets de l'extrait aqueux de chaque mixture sur ces paramètres.

L'âge moyen des herboristes interrogés (13 femmes, 276 hommes) était de 47.01 ± 0.44 an. L'enquête ethnobotanique a révélé que les herboristes sont dans 19,7% des illettrés, et 57,09 % se

réfèrent aux expériences de leurs parents pour la connaissance des propriétés et des indications thérapeutiques des plantes médicinales. 50.51% ont une expérience entre 7 ans et 12 ans. Les données botaniques ont révélé que 69 espèces de plantes appartenant à 38 familles botaniques ont été prescrites par les herboristes pour le traitement des maladies. Le screening toxicologique de l'extrait aqueux de la première mixture a révélé la présence de tanins catéchiques, galliques, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de glycosides cardiaques et de Mucilage. Alors que, le criblage phytochimique de M2 a révélé la présence de de tanins catéchiques, galliques, saponines, flavonoïdes, leucoanthocyanes, catéchols, coumarines, alcaloïdes, glycosides cardiaques et mucilages. L'évaluation de la toxicité aiguë et subaiguë a révélé des effets toxiques de l'extrait aqueux des deux mixtures sur les paramètres biochimiques tels que les paramètres sériques hépatiques (ALAT, ASAT et ALP) et sur le taux des paramètres sériques rénales (créatinine et urée). De même pour le profil lipidique et les électrolytes ont présenté des changements significatifs. L'administration de l'extrait aqueux des mixtures ont présenté aussi des effets toxiques sur le système hématopoïétique par le changement significatif de plusieurs paramètres hématologiques (nombre des globules rouges, nombre des globules blancs, taux d'hémoglobine…). Au niveau histologique, l'effet toxique des mixtures s'exprime par plusieurs infiltrats inflammatoires de type lymphocytaire, plasmocytaire et éosinophilique dans la veine porte du foie, tandis que le rein n'a présenté aucun changement sur l'architecture normale rénale.

Mots-clés : maladies rénales, herboristes, Fès-Meknès, mixtures de plantes, enquête ethnopharmacologique, screening toxicologique, toxicité aiguë, toxicité subaiguë.

ABSTRACT

The use of plants for the treatment of diseases in Morocco is widespread. The aim of our work is to evaluate *in vivo* the toxicity mixtures of plants used in Morocco in the traditional treatment of kidney disease and, on the other hand, to determine the bioactive molecules responsible for this toxicity.

In the first part, an ethnopharmacological survey was conducted from 289 local herbalists in eight different areas of Fez–Meknes region. Ethnomedicinal uses and ethnobotanical indices were analyzed using quantitative tools, i.e., the total number of citation (TNC), use value (UV), family use value (FUV), fidelity level (FL), and rank order priority (ROP). Statistical analyses such as Pearson correlation and chi-squared test were performed to delineate any correlation. The second part of our study was reserved for the extraction of different bioactive molecules from mixtures by two techniques such as infusion and extraction by soxhlet. The infused of each mixture was analyzed by phytochemical screening, while the different fractions obtained by soxhlet were analyzed by HPLC-DAD. The last part consists in evaluating the acute and subacute toxicity of each mixture of plants in Wistar rats. For acute toxicity, a single dose of 300, 500, 2000, and 6000 mg/kg and 10 ml/kg body weight of an aqueous extract of plants mixture, were administered orally to Wistar rats. Whereas, other rats were received a repeated dose of 500 mg/kg for 28 days to evaluate the subacute toxicity. The animals were observed for any behavioral changes, neurological changes, changes in autonomic profiles, and mortality. The body weights were measured each day during 14 days for acute toxicity and for 28 days for subacute toxicity, following the aqueous extract of plants mixture administration. Calculation of relative organ weight, hematological, biochemical analysis, and histopathology evaluation was carried out.

The average age of the herbalists interviewed (13 women, 276 men) was 47.01 ± 0.44 years. Botanical data revealed that 69 species of plants belonging to 38 botanical families have been prescribed by herbalists for the traditional treatment of kidney diseases. The highest value of UV was obtained for *Herniaria glabra* L. (UV = 0.79), and Caryophyllaceae was the family frequently cited (FUV = 0.795). *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. had the highest value of FL with a value of 100%, and the highest value of ROP was recorded for *Herniaria glabra* L. (ROP = 91%). Sociodemographic characteristics had a significant impact on the knowledge of toxic plants. The evaluation of the acute and subacute toxicity revealed the toxic effects of the aqueous extract of the two mixtures on the hepatic serum parameters (ALAT, ASAT and ALP), the renal serum parameters (creatinine and urea), the lipids profile and on the electrolytes. The acute and subacute administration of the aqueous extract of the mixtures also presented toxic effects on the

hematopoietic system by the significant change of several hematological parameters (number of red blood cells, number of white blood cells, hemoglobin level, etc.). Histologically, the toxic effect of the mixtures is expressed by several inflammatory infiltrates of the lymphocytic, plasmocytic and eosinophilic type in the portal vein of the liver, while the kidney has shown no change in the normal renal architecture.

ملخص

يعرف التداوي بالأعشاب في المغرب انتشاراً كبيراً. يتم علاج مجموعة من الأمراض المستعصية والمزمنة بطريقة تقليدية بالاعتماد على مجموعة من النباتات الطبية والخلطات النباتية التي يصفها المعالجون التقليديون للمرضى. صحيح ان معظم الأدوية الحالية أصلها من النباتات، لكن خطر التسمم بهذه النباتات يبقى وارداً في غياب دراسة علمية للنباتات المستعملة. نهدف من خلال دراستنا الى تقييم خطورة التسمم بالخلطات النباتية التي يصفها المعالجون التقليديون لعالج امراض الكلي في جهة فاس مكناس.

اولا، نقوم بزيارات ميدانية لمجموعة من المعالجين التقليديين بهدف جمع الأعشاب الطبية والخلطات النباتية المستعملة في العلاج التقليدي لأمراض الكلي في جهة فاس مكناس. بالموازات مع ذلك، نقوم بدراسات سوسيوديمغرافية للمعالجين التقليديين ودراسات صيدلانية عرقية للنباتات المستعملة. ثانيا، نقوم باستخلاص المكونات الكيميائية لأهم النباتات المستعملة ضمن الخلطات النباتية الأكثر وصفاً من طرف المعالجين التقليديين لعلاج امراض الكلي باستعمال الاستخلاص بالنقع وبتقنية Soxhlet. يتم استعمال المنقوع للفحص التحليلي للمكونات الكيميائية بينما يتم تحليل الأجزاء المحصل عليها باستعمال Soxhlet بواسطة كروماتوغرافيا السائل HPLC – DAD. في الأخير نقوم بدراسة السمية الحادة و الشبه حادة للخلطات النباتية المستعملة في العلاج التقليدي لأمراض الكلي. من اجل ذلك، نقوم بحقن المستخلص المائي للخلطات بجرعات مختلفة لمجموعة من الفئران. نقوم بتتبع اليومي لوزن وسلوك الفئران لمدة 14 يوما لدراسة السمية الحادة، ومدة 28 يوما لدراسة السمية شبه حادة. بعد ذلك تخضع الفئران لدارسة كيميائية ودموية. وفي الأخير، يتم فحص أنسجة الكبد والكلي للتحقق من مدي تأثرها بالخلطات النباتية.

كان متوسط عمر المعالجين بالأعشاب الذين تمت مقابلتهم (13 امرأة، 276 رجلاً) هو 47.01 ± 0.44 سنة. كشفت الدراسة الاستقصائية أن المعالجين بالأعشاب أميين بنسبة 19.7 ٪، ويشير 57.09 ٪ إلى تجارب آبائهم لمعرفة خواص النباتات الطبية ومؤشراتها العلاجية. 50.51 ٪ لديهم خبرة بين 7 سنوات و12 سنة. كشفت الدراسات النباتية أن 69 نوعًا من النباتات التي تنتمي إلى 38 عائلة نباتية قد تم وصفها من قبل المعالجين بالأعشاب لعلاج الأمراض. كشف تقييم السمية الحادة وتحت الحادة عن تأثيرات سامة للمستخلص المائي للخلطات على المعلمات البيوكيميائية مثل المعلمات المصلية الكبدية (ALAT، ASAT و ALP) وعلى معدل معلمات مصل الكلى (الكرياتينين و اليوريا). وبالمثل بالنسبة للدهون قدمت تغييرات كبيرة. قدمت إدارة المستخلص المائي للمخاليط أيضًا تأثيرات سامة على نظام المكونة للدم بسبب التغير الكبير في العديد من المعلمات الدموية (عدد خلايا الدم الحمراء ، عدد خلايا الدم البيضاء ، مستوى الهيموغلوبين ، إلخ). من الناحية النسيجية، يتم التعبير عن التأثير السام للمخاليط من خلال العديد من المتسربات الالتهابية من النوع اللمفاوي والبلازمي والايوزينوفيلي في الوريد البابي للكبد ، في حين أن الكلية لم تظهر أي تغيير في نسيجها مقارنةً مع نسيج الفأران الشاهدة.

Sommaire

Dédicace I

Remerciements II

Liste des figures IV

Liste des tableaux VII

Liste des abréviations IX

Résumé XII

Abstract XV

ملخص XVII

Introduction 1

Objectifs 7

Synthèse BIBLIOGRAPHIQUE 9

Partie I : Maladies rénales et pharmacopée traditionnelle 10

I. Rappel anatomique du rein 10

II. Rappel fonctionnel du rein 13

III. Symptômes d'atteinte rénale 13

1. Œdèmes d'origine rénale 13

2. Hématurie 14

3. Colique néphrétique 16

IV. Classification actuelle des maladies rénales 16

1. Classification syndromique 16

1.1. Insuffisance rénale chronique 16

1.2. Insuffisance rénale aiguë 18

1.2.1. Insuffisance rénale aiguë obstructive 18

1.2.1.1. Lithiase rénale 18

1.2.2. Insuffisance rénale aiguë fonctionnelle 20
1.2.3. Insuffisance rénale aiguë organique 21
V. Place de la pharmacopée traditionnelle dans le traitement des maladies rénales 21
1. Données épidémiologiques sur la pharmacopée traditionnelle 21
2. Monographie des plantes les plus utilisées dans le traitement des maladies rénales 22
2.1. *Herniaria glabra* L. (Caryophyllaceae) 22
2.1.1. Classification 23
2.1.2. Utilisation traditionnelle 23
2.1.3. Activité pharmacologique 23
2.1.4. Toxicité 24
2.2. *Zizyphus lotus* L. 24
2.2.1. Classification 25
2.2.2. Utilisation traditionnelle 25
2.2.3. Pharmacologie 25
2.2.4. Toxicité 26
2.3. *Opuntia ficus-indica* L. Mill. 26
2.3.1. Classification 27
2.3.2. Utilisation traditionnelle 27
2.3.3. Pharmacologie 28
2.3.4. Toxicité 28
2.4. *Ammodaucus leucotrichus* 28
2.4.1. Classification 29
2.4.2. Utilisation traditionnelle 29
2.4.1. Pharmacologie 30
2.4.2. Toxicité 30
2.5. *Petroselinum crispum* 30
2.5.1. Classification 31
2.5.2. Utilisation traditionnelle 31
2.5.3. Pharmacologie 32
2.5.4. Toxicité 33
2.6. *Chamaemelum nobile* L. 33
2.6.1. Classification 34
2.6.2. Utilisation traditionnelle 34

2.6.3. Pharmacologie 34
2.6.4. Toxicité 35
2.7. Rosmarinus officinalis 35
2.7.1. Classification 36
2.7.2. Utilisation traditionnelle 36
2.7.3. Pharmacologie 37
2.7.4. Toxicité 37
2.8. Lavandula officinalis 37
2.8.1. Classification 38
2.8.2. Utilisation traditionnelle 39
2.8.3. Pharmacologie 39
2.8.4. Toxicité 39
3. Pharmacopée traditionnelle et le risque de néphrotoxicité 39
3.1. Plantes médicinales directement néphrotoxiques 40
3.1.1. Néphropathie à l'acide aristolochique 40
3.1.2. Intoxication par *Callilepis laureola*: 41
3.1.3. Griffe de chat (*Uncaria tomentosa*) 41
3.2. Plantes médicinales entraînant des dyskaliémies : 42
3.2.1. Racine de réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) 42
3.2.2. Plantes laxatives 42
3.3. Plantes médicinales favorisant la formation de calculs rénaux 43
3.4. Plantes médicinales à activité diurétique 43
3.5. Principales plantes néphrotoxiques au Maroc 43
Partie II : Screening phytochimique des plantes et évaluation de la toxicité 45
I. Principales méthodes d'extraction 45
1. Méthodes traditionnelles 45
2. Méthodes scientifiques 45
2.1. Lixiviation (Extrait fluide) 45
2.2. Extraction par Soxhlet 45
2.3. Extraction par ultra-sons 46
2.4. Extraction par Likens-Nickerson 47
II. Méthodes d'identification des molécules bioactives 48

1. Méthodes colorimétriques 48
2. Méthodes spectrophotométriques 49
2.1. Spectrophotométrie UV-visible 49
2.2. Résonance magnétique nucléaire (RMN) 50
2.3. Spectroscopie de masse 50
3. Méthodes chromatographiques 50
3.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) 50
3.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) 51
3.3. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) 51
3.4. Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS) 52
III. Modèles animaux pour l'évaluation de la toxicité 53
1. Choix du modèle animal 53
2. Intérêt des rats comme modèles animaux pour la recherche toxicologique 54
2.1. Conditions d'hébergement et d'alimentation 55
2.2. Préparation des animaux 55
3. Evaluation de la toxicité 55
3.1. Toxicité aiguë et subaiguë 55
3.2. Observations et examens de la toxicité 55
Matériel et Méthodes 57
I. Enquête ethnopharmacologique des plantes et mixtures des plantes utilisées dans le traitement des maladies rénales dans la région de Fès-Meknès 58
1. Lieu d'étude 58
2. Type et période de l'étude 59
3. Population étudiée 59
3.1. Critères d'inclusion 60
3.2. Critères d'exclusion 60
4. Fiche de recueil de données 60
II. Screening phytochimique des mixtures 63
1. Matériel végétal 63

2. Extraction de la mixture 64
2.1. Extraction par infusion 64
2.2. Extraction solide-liquide (système de soxhlet) 65
3. Criblage phytochimique de l'extrait aqueux des mixtures 65
3.1. Tanins 65
3.1.1. Tanins catéchiques 66
3.1.2. Tanins galliques 66
3.2. Flavonoïdes 66
3.2.1. Leucoanthocyanes 66
3.2.2. Catéchols 66
3.3. Saponosides 67
3.3.1. Test quantitatif 67
3.4. Stérols et terpènes 67
3.5. Coumarines 67
3.6. Quinones libres 68
3.6.1. Anthraquinones libres 68
3.6.2. Anthracéniques combinés 68
3.7. Alcaloïdes 68
3.8. Glycosides cardiaques 69
3.9. Mucilages 69
4. Dosage par HPLC-DAD 69
IV. Evaluation de la toxicité aiguë et subaiguë 70
1. Poids corporel et signes de toxicité 71
2. Calcul des poids relatifs des organes 71
3. Analyses des paramètres biochimiques 71
4. Analyses hématologiques 72
5. Evaluation histopathologique 72
5.1. Fixation 73
5.2. Inclusion 75
5.3. Microtomie 77
5.4. Coloration 78

5.5. Montage 79

Résultats et Discussion 80

Chapitre I : Enquête ethnopharmacologique sur les plantes et les mixtures utilisées dans le traitement traditionnel des maladies rénales 81

I. Caractéristiques sociodémographiques et professionnelles des herboristes 81

1. Caractéristiques sociodémographiques des herboristes 81

2. Caractéristiques professionnelles des herboristes 82

II. Données sur les plantes les plus utilisées dans le traitement des maladies rénales 83

1. Parties des plantes utilisées, mode de préparation et mode d'administration 83

2. Analyses des indices ethnobotaniques 85

2.1. Nombre total des citations (NTC), valeur d'usage (UV) et valeur d'usage de la famille botanique (FUV) 85

2.2. Niveau de fidélité (FL) et priorité de classement (ROP) 90

2.3. Facteur de consensus des informateurs (FIC) 93

III. Association entre les caractéristiques sociodémographiques des herboristes et les connaissances des plantes 93

1. Relation entre l'âge des herboristes et le nombre d'espèces de plantes citées 93

2. Relation entre les caractéristiques sociodémographiques et les connaissances sur les plantes toxiques 94

IV. Données sur les mixtures de plantes les plus utilisées dans le traitement des maladies rénales 95

Chapitre II : screening phytochimique des mixtures utilisées dans le traitement traditionnel des maladies rénales 96

I. Criblage phytochimique des mixtures 96

II. Dosage par HPLC-DAD 99

1. Dosage des standards 99

2. Dosages des polyphénols et flavonoïdes des différents extraits des mixtures par HPLC-DAD 103

Chapitre III : évaluation de la toxicité aiguë et subaiguë des mixtures utilisées dans le traitement traditionnel des maladies rénales 108

I. Evaluation de la toxicité aiguë 108

1. Signes de toxicité et poids corporel 108
2. Effet de l'extrait aqueux de mixture sur le poids relatif des organes 110
3. Effet des mixtures (M1 et M2) sur les paramètres biochimiques 112
4. Effet de l'extrait aqueux de mixture sur les paramètres hématologiques 116
5. Effet de l'extrait aqueux de mixture sur le tissu hépatique 122
6. Effet de l'extrait aqueux de deux mixtures sur le tissu rénal 126

II. Evaluation de la toxicité subaiguë 128

1. Signes de toxicité et poids corporel 128
2. Effet de l'extrait aqueux des mixture M1 et M2 sur le poids relatif des organes 129
3. Effet de l'extrait des mixtures sur les paramètres biochimiques 130
4. Effet de l'extrait de deux mixtures sur les paramètres hématologiques 132
5. Effet de l'extrait aqueux de M1 et M2 sur le tissu hépatique 134
6. Effet de l'administration subaiguë de deux mixtures sur le tissu rénal 138

Conclusion et Perspectives 140

Bibliographie 144

Annexes 169

INTRODUCTION

La phytothérapie traditionnelle désigne la médecine fondée sur les extraits des plantes et les principes actifs naturels. Ce mot vient du grec "phyto" qui signifie plante et "thérapie" qui signifie soigner. Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle et encore massivement employée dans certains pays surtout les pays en voie de développement (Blank, 2008).

Selon l'OMS, dans les pays développés, les médecines traditionnelles, complémentaires et parallèles connaissent un succès croissant. Ainsi, le pourcentage de la population ayant eu recours à ces médecines au moins une fois est de 42 % aux États-Unis d'Amérique, 70 % au Canada, 48 % en Australie, 31 % en Belgique, 49 % en France et (Shamsuzzoha et al., 2007)**.**

Dans certains 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 cout abordable et surtout en raison de la difficulté d'accès à la médecine moderne (Navarette et al., 2011).

Au Maroc, la phytothérapie avec d'autres médecines alternatives est considérée comme particulièrement attractive, le Maroc possédant une richesse importante en plantes avec environ 4200 espèces, dont près de 600 utilisées en médecine traditionnelle (Errajraji et al., 2010). En plus des croyances ancestrales, l'illettrisme, les revenus limités de la population marocaine, les effets indésirables liés aux médicaments, les facteurs socioculturels ont augmenté la demande en matière de traitement par les plantes. C'est ainsi que la médecine moderne, parfois inaccessible par son cout ou incapable de traiter une maladie grave ou chronique cède la place à l'exercice des tradipraticiens qui ont investi dans ce domaine très rentable en prescrivant des recettes à base de plantes dont la connaissance et les impératifs de préparation, de dosage et de consommation ne sont pas bien maitrisés. Les plantes et leurs mixtures peuvent contenir des composés chimiques très toxiques responsables le plus souvent, d'effets indésirables voire des intoxications graves (OMS, 2002).

Toute plante médicinale, dans les conditions normales de son utilisation, est susceptible de faire preuve d'effets secondaires en règle générale indésirables. Dans certaines circonstances, l'usage de plantes peut même être à l'origine d'intoxications.

Aux États-Unis, l'intoxication par les plantes occupe le 4ème rang des empoisonnements. Alors qu'en Suisse elle présente 7, 2 %, en Italie 6, 5 %, en Turquie 6% et en France et en Belgique 5 % des intoxications, toutes causes confondues (Krenzelok et al., 1996).

Au Maroc, les études antérieures du Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc (CAPM) ont montré que les plantes étaient impliquées dans 3 à 5 % de l'ensemble des intoxications toutes circonstances confondues et entrainaient une mortalité assez élevée de 17 % (Ouammi et al., 2009).

Ce dernier aspect reste en retrait par rapport à l'avancement de la phytothérapie. En effet, plusieurs études réalisées sur les traitements traditionnels à base de plantes ont fait état de problème de toxicité ou d'interaction pouvant causer des échecs thérapeutiques ou des accidents (Hmamouchi, 1998). D'autre part, les principes toxiques des plantes sont peu connus, essentiellement du fait de leur complexité naturelle (De Smet, 1993). Dans le cadre d'une enquête socioéconomique et ethnobotanique réalisée sur la médecine traditionnelle au Maroc, les résultats montrent la place importante qu'occupe cette dernière. Cela implique une incidence non négligeable sur les intoxications liées à l'utilisation de ces plantes pour des buts thérapeutiques (5,1%) (Kamgoui, 2004).

Les auteurs ont rapporté récemment que seulement 15% des études cliniques randomisées portant sur l'évaluation des plantes médicinales ont pris en compte les effets secondaires et toxiques de ces plantes (Soulaymani-Bencheikh, 2010).

Les atteintes toxiques concernent la plupart des organes, on peut citer notamment les atteintes cardiaques par intoxication à l'aconit (Bosquet et al., 2001), les atteintes pulmonaires liées à certaines menthes (Larrey, 1997), les atteintes hépatiques liées à l'utilisation des plusieurs plantes médicinales tels que le chardon à glu, *Callilepis laureola* (Impila) et *Teucrium chamaedrys* (germandrée petit-chêne) (Peyrin-Biroulet et al., 2004). La néphrotoxicité des plantes médicinales peut être définie de façon très large comme l'ensemble des altérations fonctionnelles ou structurelles rénales, induites directement ou indirectement par les substances contenues dans ces plantes et qui sont absorbées dans l'organisme quelle qu'en soit la voie de pénétration (Stengel et al., 1999).

Les pratiques de la phytothérapie au Maroc sont actuellement en pleine effervescence, et connaissent un intérêt grandissant provenant d'origines diverses, en lien avec de multiples enjeux (la richesse de la flore, les émissions sur la phytothérapie diffusées par les radios marocaines, raisons culturelles, manquent de règlementation). Mais les études sur les aspects toxicologiques sont rares voir absentes, en dehors d'une enquête ethnobotanique réalisée à la ville de Fès au centre du Maroc chez un seul herboriste, qui a révélé que la majorité des plantes médicinales étaient utilisées contre les affections urinaires (21%), suivies des maladies de l'appareil digestif (19,6%) et des maladies rhumatologiques (18,2%). Le nombre de plantes prescrites par l'herboriste était de 53 dont 5 sont potentiellement toxiques soit 9,3%. L'identification taxonomique des plantes prescrites a recensé 30 familles. La prescription des plantes considérées comme toxiques a concerné 7,1% des consultants traités par les plantes médicinales (Zeggwagh et al., 2013) .

Dans le traitement des maladies rénales, plusieurs études mettent en œuvre l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de cette maladie. Les études de Jaouad et al. (2001) ont cité l'utilisation de 33 plantes dans le traitement des maladies rénales dans le centre-nord du Maroc, dont les plantes les plus utilisées sont : *Herniaria glabra*, *Coriandrum sativum*, *Ziziphus lotus*, *Petr*oselinum sativum, *Punica granatum*, *Foeniculum vulgare*, *Glycyrrhiza glabra, Linum usitatissimum, Pyrus communis*, Prunus cerasus, *Rubia tinctorum, Ruta montana* et *Sarracenia purpurea* (Jouad et al., 2001a). Une autre étude dans la région de Taounate située dans la région du nord par (El-Hilaly et al., 2003b) a cité 20 plantes médicinales pour le traitement de la même maladie, dont *Rosmarinus officinalis Zea mays, lavandula officinalis* et *Foeniculum vulgare* sont les plus citées.

Dans les autres régions, un enquête ethnobotanique dans la région de Darâa-Tafilalt par (Eddouks et al., 2017) a cité 12 plantes (*Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgare*, *Artemisia herba-alba*, *Trigonella foenum, Lippia citriodora*, *Allium sativum* L., *Lavandula multifida, Salvia officinalis* L., *Herniaria fontanesii*, *Punica granatum, Allium cepa*, *Petroselinum sativum*) dans le traitement des maladies rénales . Cinquante-neuf plantes dans la région de l'oriental ont été mentionnées par (Fakchich et al., 2014) pour le traitement des maladies rénales dont les plus fréquent sont : *Hernaria hirsuta* L, *Origanum compactum* Benth., *Zizyphus lotus* (L.)

Les effets thérapeutique de certaines plantes ont été confirmés par plusieurs travaux scientifiques tels que *H. glabra* (Rhiouani et al., 1999), *F. vulgare* (Tanira et al., 1996;

Susplugas et al., 1991), *Z. mays* (Doan et al., 1992), *Ce. erythraea* et *R. officinalis* (Haloui et al., 2000) et *S. purpurea* (Jouad et al., 2000). Mais aucune étude n'a évalué les effets toxiques de ces plantes utilisées dans le traitement des maladies rénales même si plusieurs études ont confirmé la toxicité des plantes considérées comme non toxiques.

Il est largement admis que l'utilisation de plusieurs plantes médicinales en mixture potentialise l'effet thérapeutique des ces plantes. C'est vari que c'est un mélange de molécules de structures chimiques variées qui agit à différents niveaux, de façon combinée ou bien en synergie et qui n'est pas une seule molécule qui agit sur une seule cible. Néanmoins, le risque de synergie entre plusieurs plantes toxiques dans un mixture augmente le risque de l'intoxication.

Notre étude vient compléter le manque d'information concernant la toxicité des plantes par l'évaluation la toxicité aiguë et subaiguë des mixtures de plantes les plus prescrites par les herboristes pour le traitement des maladies rénales dans la région de Fès – Meknès et l'identification des molécules bioactives responsables de cette toxicité.

Dans une première partie, nous avons procédé à la collecte des plantes et des mixtures de plantes les plus prescrites par les herboristes dans la région de Fès-Meknès pour le traitement des maladies rénales à l'aide d'une enquête ethnobotanique, tout en nous basant sur un questionnaire pour explorer, d'une part, les caractéristiques sociodémographiques et professionnelles des herboristes et, d'autre part, les données botaniques et pharmacologiques des plantes utilisées dans les mixtures.

La deuxième partie de notre étude a été réservée à l'extraction de différentes molécules bioactives des mixtures par différentes techniques telles que l'infusion et l'extraction par soxhlet. L'extrait aqueux de chaque mixture a été analysé par un criblage phytochimique, alors que les différentes fractions obtenues par l'extraction par soxhlet ont été analysées par HPLC-DAD.

La dernière partie consiste à évaluer la toxicité aiguë et subaiguë de chaque mixture de plantes chez les rats Wistar. Dans ce sens, nous avons administré les extraits aqueux de chaque mixture aux différents groupes des rats afin d'examiner l'état corporel et les signes de toxicité suivant l'administration. Ensuite, des études biochimiques, hématologiques et

histopathologiques ont été effectuées dans le but de déterminer l'effet toxique de l'extrait aqueux de chaque mixture sur ces paramètres.

OBJECTIFS

Nous souhaitons à travers ce travail de thèse atteindre les objectifs suivants :

- **Objectif principal**

L'objectif principal de notre étude était d'évaluer la toxicité aiguë et subaiguë des mixtures de plantes les plus prescrites par les herboristes pour le traitement des maladies rénales dans la région de Fès – Meknès.

- **Objectif secondaire**

Les objectifs secondaires étaient comme suit :

- Recenser les mixtures et les plantes les plus commercialisées par les herboristes dans la région de Fès-Meknès dans le traitement des maladies rénales.
- Extraire et identifier les différents composés chimiques toxiques présents dans ces mixtures.
- Tester l'effet des différents extraits obtenus sur l'animal afin de confirmer leur toxicité.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Partie I : Maladies rénales et pharmacopée traditionnelle

I. Rappel anatomique du rein

Le rein est un organe qu'a une fonction essentielle dans l'organisme : il joue le rôle d'une station d'épuration. De plus, il contribue à la régulation de la volémie, aux équilibres hydro électrolytiques et joue plusieurs rôles endocrinologiques.

L'appareil urinaire se compose des reins, des uretères, d'un urètre, de la vessie et d'un méat urinaire. Il se forme et commence à fonctionner avant la naissance.

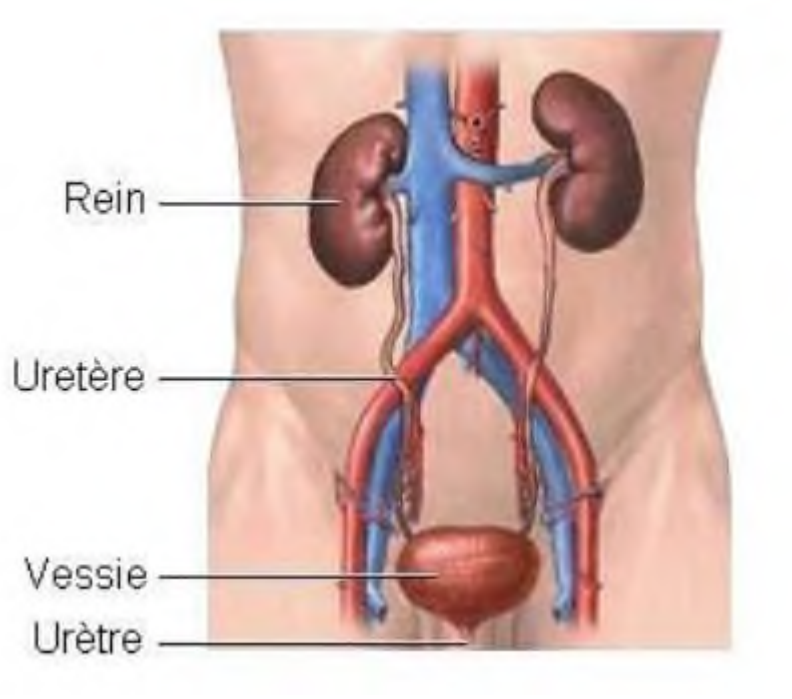


Figure 1: Schéma montrant l'appareil urinaire (Frank, 1998)

Les reins sont deux organes en forme de haricot situés dans la partie postérieure de l'abdomen, de part et d'autre de la colonne vertébrale, approximativement entre la douzième vertèbre dorsale et la troisième vertèbre lombaire. Il arrive souvent que le rein gauche soit situé jusqu'à 2,5 centimètres plus haut que le rein droit. Le rein mesure 10 à 12,5 centimètres de long et 5 centimètres d'épaisseur environ, pour un poids de 100 à 150 grammes en moyenne chez l'adulte. Les reins sont de couleur rouge-brun foncé en raison de l'abondante présence de vaisseaux sanguins.

Le rein comporte un bord latéral concave sur lequel s'implantent l'artère rénale, la veine rénale, des fibres nerveuses, et l'uretère au niveau d'une ouverture appelée le hile. Le rein contient une cavité, le sinus rénal, qui renferme les unités fonctionnelles de la filtration, les néphrons. Chaque rein en contient plus d'un million (Frank, 1998).

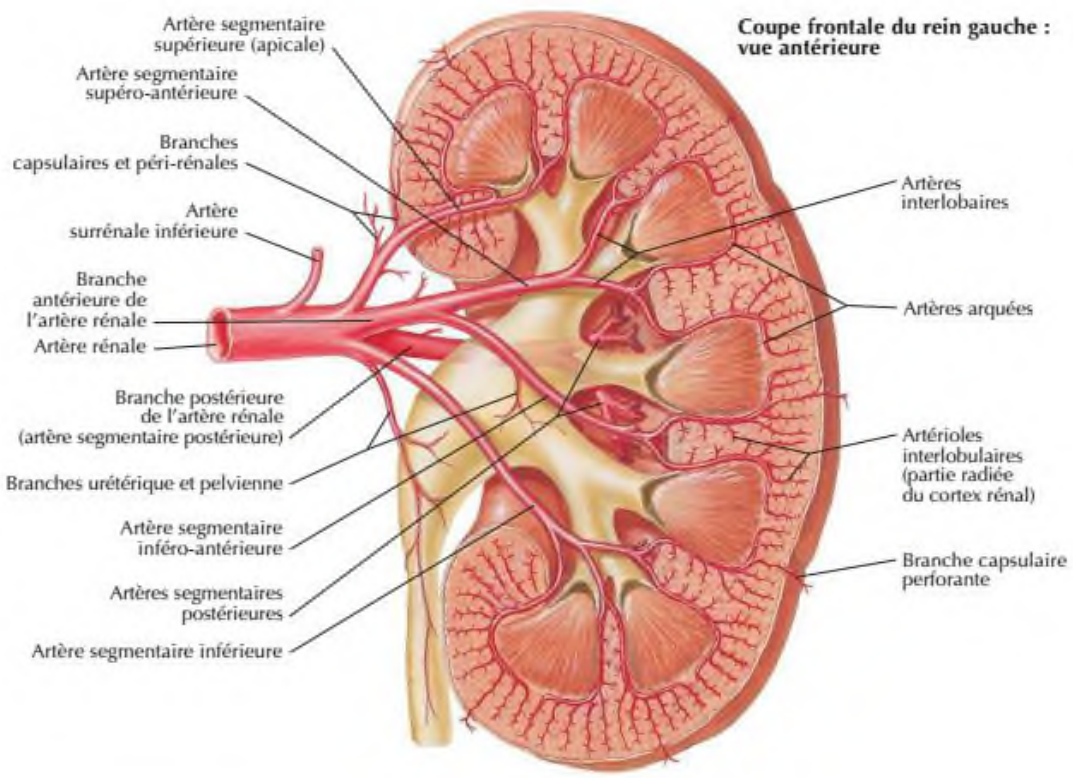


Figure 2 : Schéma de la vascularisation interne du rein (Netter, 2011)

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein. Chaque rein comprend environ 1 ,2 millions de néphrons avec des variations allant de 0 ,7 à 1 ,5 millions qui sont déterminés génétiquement et qui pourraient expliquer la susceptibilité à certaines maladies rénales. Le néphron est constitué :

- D'une capsule rénale composée d'un glomérule constitué d'un peloton de capillaires coiffés par l'invagination de la capsule de bowman. Le réseau vasculaire est formé d'une artériole afférente et d'une artériole efférente.
- D'un tubule rénal formé successivement d'un tube proximal, l'anse de Henlé, un tube distal qui se jette dans le canal collecteur.
- D'un appareil juxtaglomérulaire : composé de l'appui d'une artériole afférente sur le tube contourné distal. La paroi artérielle contient à cet endroit, des cellules contenant de

la rénine, associées à un amas de cellules chimioosmoréceptrices du tubule contourné distal : la macula densa (Yassine, 2012).

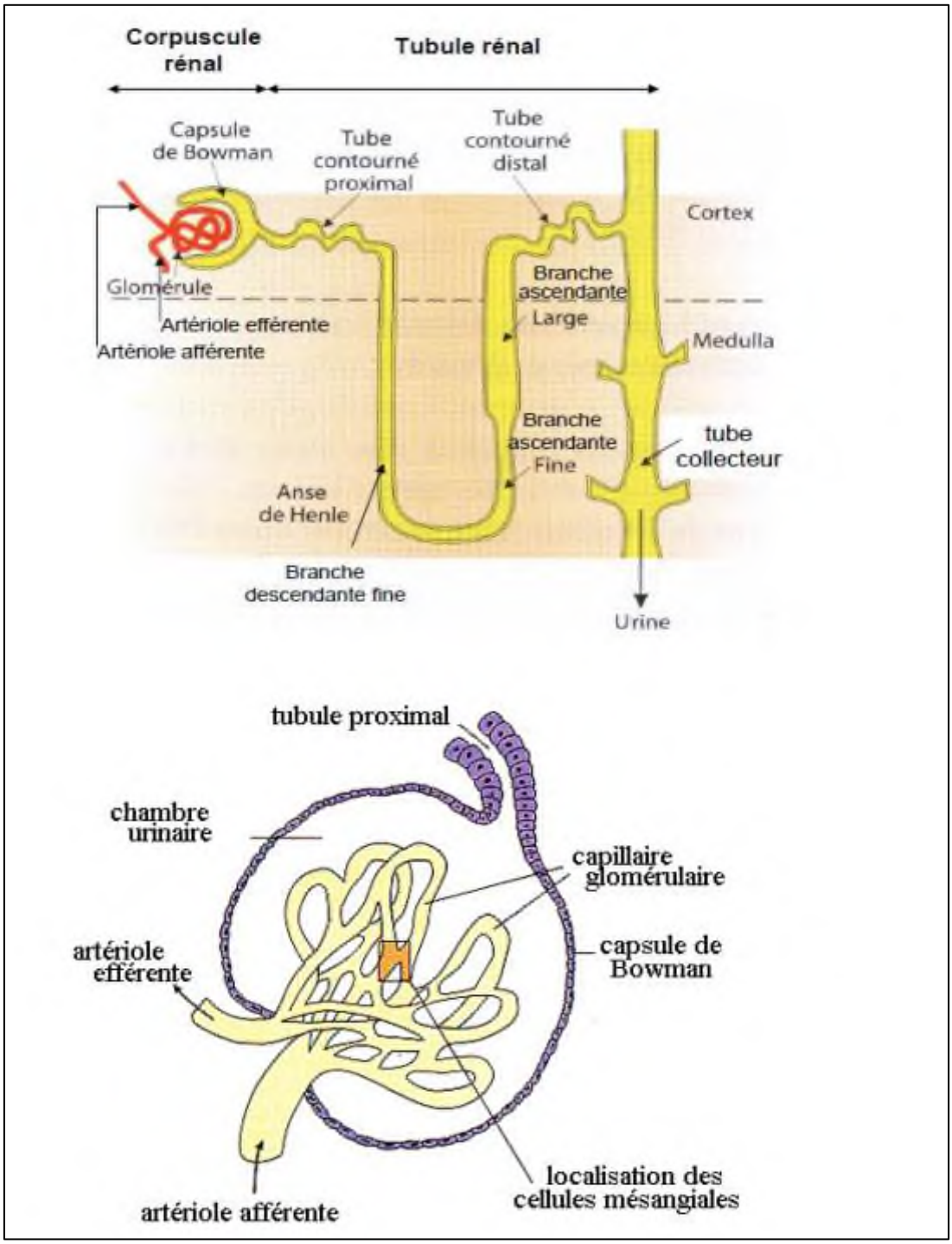


Figure 3 : Schéma des différents constituants du néphron (Frank, 1998)

II. Rappel fonctionnel du rein

En plus de la fonction principale du rein qu'est la filtration et l'épuration du sang, le rein intervient à bien des niveaux, notamment dans la régulation de la pression artérielle, et assurent des fonctions exocrines et endocrines dont les principales sont :

Tableau 1: Principales fonctions du rein

Fonctions du rein	Hormone sécrétée	Rôle d'hormone
Fonction endocrine	La rénine	Production de l'angiotensine II à partir de l'angiotensinogène et de l'aldostérone
	L'érythropoïétine	Régule la masse globulaire
	Calcitriol	Synthèse de la vitamine D
	Néoglucogenèse, métabolisme des lipides et l'homocystéine	
Fonction exocrine	Formation de l'urine, équilibre hydro électrolytique, un équilibre acido-basique	

III. Symptômes d'atteinte rénale

La maladie rénale chronique s'accompagne rarement d'une symptomatologie clinique. Elle est le plus souvent dite silencieuse. Lorsqu'ils sont présents, les symptômes sont souvent non spécifiques.

Nous avons jugé intéressant de détailler les symptômes les plus répandus dans notre recherche :

1. Œdèmes d'origine rénale

L'œdème est une infiltration des tissus par un liquide séreux, touchant notamment le tissu cutané et les muqueuses, mais aussi d'autres organes comme les poumons, le cerveau les reins...Quand il est d'origine rénale, l'œdème est consécutif à la rétention sodée due à une insuffisance rénale comme dans le syndrome néphrotique.

Les mécanismes physiopathologiques de la formation d'œdèmes en syndrome néphrotique ont été discutés au cours de plusieurs décennies. L'accumulation anormale de liquide interstitiel résulte de la combinaison de :

• Rétention anormale de sodium dans le rein (primaire et secondaire)
• Augmentation de la perméabilité de la paroi capillaire (liée à la libération du facteur de perméabilité vasculaire et d'autres cytokines)(Bobkova et al., 2016).

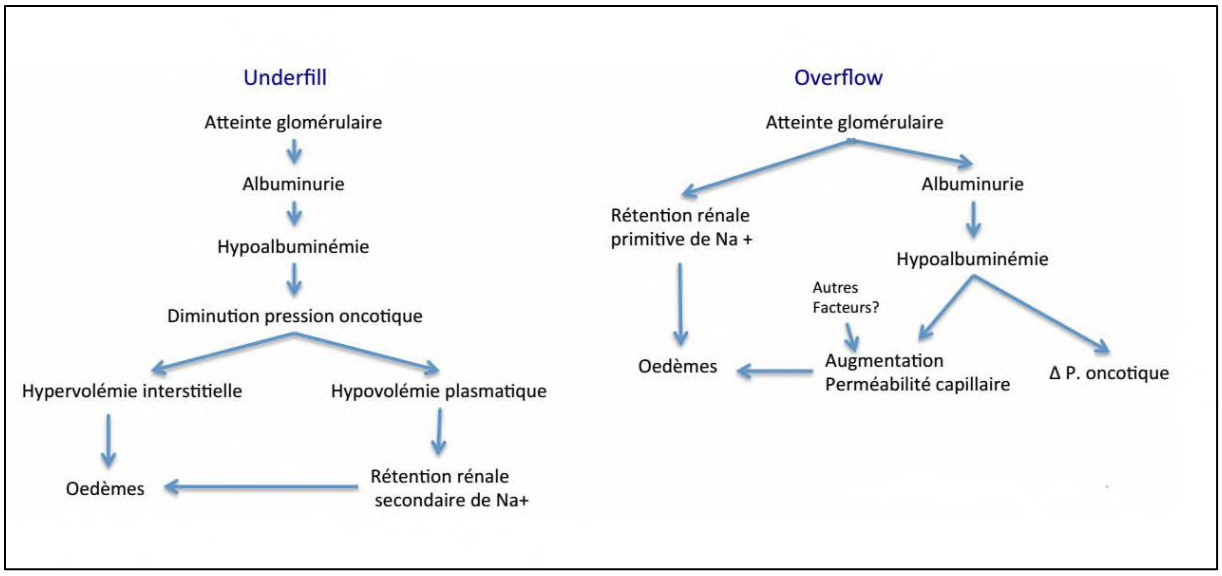


Figure 4: Mécanisme physiopathologique de la formation d'œdème dans le syndrome néphrotique (Bobkova et al., 2016)

2. Hématurie

L'hématurie est la présence, en quantité anormale, d'hématies émises dans les urines (≥10/mm^3 ou 10000/ml). On distingue deux types d'hématurie : microscopique lorsque le nombre des hématies dans les urines ≥ 10 hématies/mm^3 ; et hématurie macroscopique lorsque le nombre des hématies dans les urines ≥ 500 hématies/mm^3 (Alechinsky-Yildiz et al., 2018).

Les hématuries micro et macroscopiques peuvent intervenir dans deux cadres nosologiques :

Soit il s'agit d'un cadre urologique. La présence des hématies dans les urines est liée à une lésion du parenchyme ou de l'arbre urinaire. Celle-ci conduit à l'effraction (micro- ou macroscopique) de vaisseaux sanguins, dont le contenu va se retrouver en contact avec la lumière de la voie excrétrice urinaire ;

Soit il s'agit d'un cadre néphrologique. Les globules rouges traversent la barrière épithéliale glomérulaire et pénètrent dans la lumière capillaire par des discontinuités structurelles dans la paroi capillaire (Collar et al., 2001). Dans la plupart des cas, la protéinurie, les hémorragies globulaires et les globules rouges déformés (dysmorphiques) dans l'urine accompagnent les hématuries provoquées par l'une des glomérulonéphrites. Cette physiopathologie explique l'absence de caillots lors d'une hématurie macroscopique d'origine néphrologique, en raison de l'action fibrinolytique de l'urokinase tubulaire ; la présence de cylindres hématiques ou d'hématies déformées sur l'analyse du culot urinaire ; l'association fréquente à une protéinurie (≥ 0,3g/24h), voire à un syndrome néphrotique ou néphritique (Alechinsky-Yildiz et al., 2018).

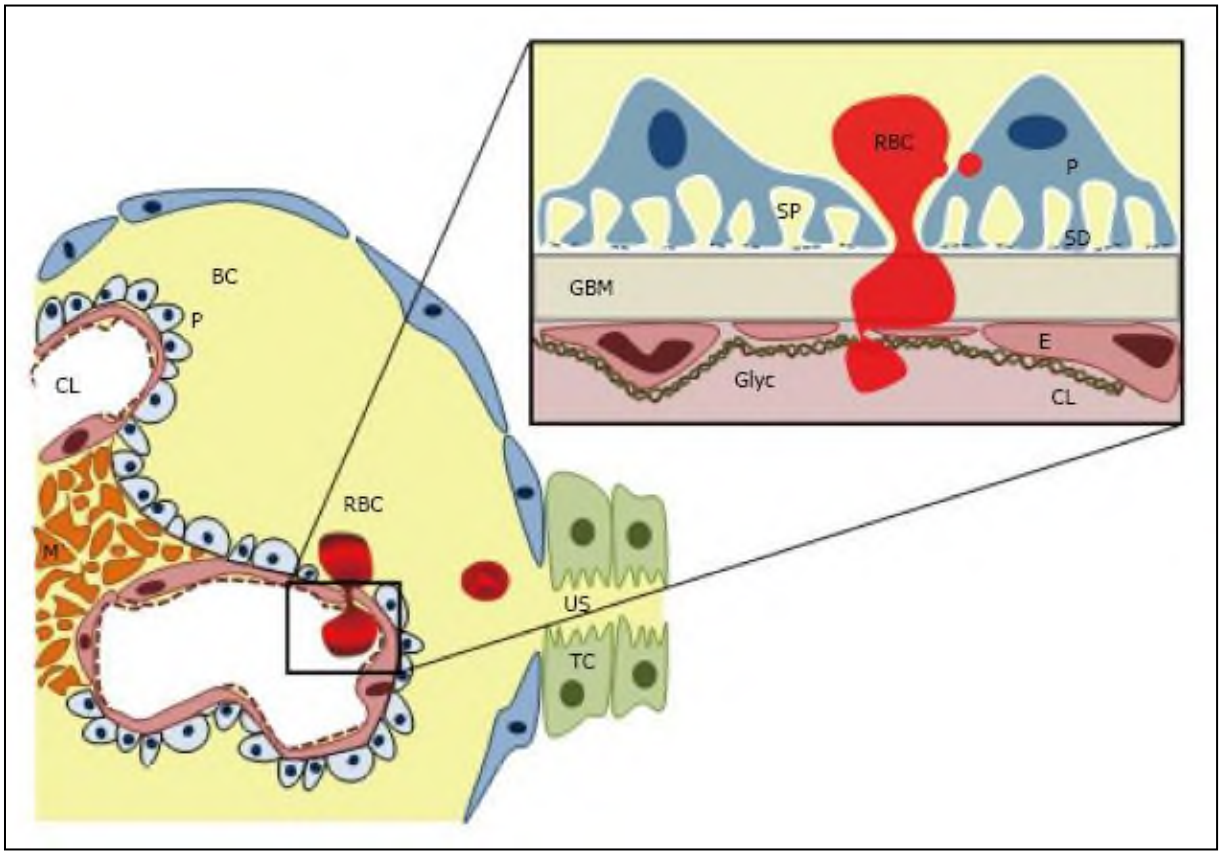


Figure 5: Structure de barrière de filtration glomérulaire et évacuation des globules rouges conduisant à une hématurie (Yuste et al., 2015)

CL: lumière capillaire; BC: capsule de Bowman; E: cellule endothéliale; GBM: membrane basale glomérulaire; Gly: glycosaminoglicanes; M: Mésangium; P: podocyte; RBC: globule rouge; SD: diaphragme à fente; SP: espace sous-podocyte; TC: cellule tubulaire; US: espace urinaire.

3. Colique néphrétique

La colique néphrétique (CN) est un syndrome douloureux aigu lombo-abdominal résultant de la mise en tension brutale de la voie excrétrice du haut appareil urinaire en amont d'une obstruction, quelle qu'en soit la cause.

Les calculs des voies urinaires sont responsables de 80 % des CN de l'adulte. Calcul et colique néphrétique ne sont donc pas synonymes : le calcul n'est qu'une des causes de colique néphrétique

L'augmentation de pression dans les voies excrétrices est liée à deux facteurs principaux :

- L'œdème généré au contact du calcul par effet irritatif qui va à la fois favoriser la rétention d'urines sus-jacentes et bloquer davantage la progression du calcul ;
- La stimulation de la synthèse intra-rénale de prostaglandines E2 (PGE2) vasodilatatrices sous l'effet de l'hyperpression intra-cavitaire qui représente le mécanisme physiopathologique essentiel.

IV. Classification actuelle des maladies rénales

La maladie rénale est un problème de santé publique qui affecte 5 à 10% de la population mondiale (Eknoyan et al., 2004). Selon les études de Maremar (Maladies rénales chroniques au Maroc), 2,9% de la population marocaine adulte est atteinte d'une maladie rénale (De Broe et al., 2016).

1. Classification syndromique

1.1. Insuffisance rénale chronique

La maladie rénale chronique (MRC) se définit comme la présence d'une atteinte rénale qui désigne un large éventail d'anomalies observées au cours de l'évaluation clinique, qui peuvent être insensibles et non spécifiques à la cause de la maladie, mais peuvent précéder la réduction de la fonction rénale (albuminurie, anomalies morphologiques du parenchyme rénal...). Le débit de filtration glomérulaire estimé (DFGe) <60 ml/min/1,73 m^2 durant plus de 3 mois est généralement accepté comme le meilleur indice de la MRC (Decreased, 2013; Levey et al., 2002).

L'albuminurie est un reflet d'une lésion de la barrière glomérulaire. Elle peut précéder la survenue d'une baisse du DFGe. L'albuminurie n'est pas spécifique d'une maladie, mais est spécifique du compartiment atteint. La protéinurie, lorsqu'elle est composée à >60% d'albumine, est considérée comme une protéinurie d'origine glomérulaire alors qu'une protéinurie composée à moins de 50% d'albumine est considérée comme d'origine tubulaire ou de surcharge (Martin, 2012).

La dernière mise à jour recommande de classer les patients en fonction de leur DFGe ainsi que leur degré d'albuminurie (Tableau 2). Cette classification permet de mieux identifier le pronostic des patients à moyen terme, mais comme toutes les classifications, expose le patient à un risque de surdiagnostic (Levey et al., 2011).

Tableau 2 : Classification de la maladie rénale chronique et estimation du risque relatif de progression vers une IRT en fonction du DFG estimé (en ml/min/1.73 m^2) et de l'albuminurie (mg/g de créatinine) adaptée de (Levey et al., 2011)

Pronostic de progression de la MRC en fonction du stade (GxAx)				**Description et classification en fonction de l'albuminurie** (rapport albumine/créatinine)		
				A1	**A2**	**A3**
				Optimale à normale haute	Albuminurie modérée	Albuminurie sévère
				< 30 mg/g	30 – 300 mg/g	> 300 mg/g
Catégorie DFG estimé (mL/min/1.73m²)	**G1**	Normal ou hyperfiltration	≥ 90			
	G2	Légèrement abaissé	60 – 89			
	G3a	Légèrement à modérément abaissé	45 – 59			
	G3b	Modérément à sévèrement abaissé	30 – 44			
	G4	Sévèrement abaissé	15 – 29			
	G5	IRT	< 15			

Les recommandations de suivi clinique et biologique de la progression sont : vert, 1 fois par an ; jaune, 2 fois par an ; orange, 3 fois par an ; rouge, minimum 4 fois par an voire une fois par mois (par exemple juste avant la mise en dialyse).

1.2.Insuffisance rénale aiguë

L'insuffisance rénale aiguë (IRA) est définie par une baisse aiguë de la filtration glomérulaire. Nombreuses causes sont responsables et les mécanismes contribuant à l'altération de la fonction rénale sont variables. Le diagnostic repose sur une définition universelle qui tient compte de l'élévation de la créatininémie et/ou le volume de la diurèse (Moulin et al., 2007).

1.2.1. Insuffisance rénale aiguë obstructive

Environ 10% des IRA sont obstructives. L'insuffisance rénale aiguë obstructive est définie par la présence d'une obstruction dans les uretères rénales et dans les voies urinaires, dont les principales causes sont les lithiases rénales, les pathologies tumorales et les pathologies inflammatoires (fibroses ou liposclérose rétropéritonéale).

1.2.1.1.Lithiase rénale

La lithiase rénale est un terme qui désigne la présence des calculs dans les reins, sont des cristaux durs qui se forment par la cristallisation des sels minéraux dans les reins. Environ 5% à 15% de la population sera touchée par une pierre au rein, et 50% de celle-ci en souffrira de manière récurrente dans les cinq à sept années suivant sa présentation initiale si des mesures préventives ne sont pas prises. Plus de 70% des calculs se produisent chez les personnes âgées de 20 à 50 ans et ils sont plus fréquents chez les hommes que chez les femmes d'un facteur environ 2/1. Les patients souffrant d'obésité, d'hypertension et / ou de diabète courent un risque accru de formation de calculs rénaux (D'costa et al., 2019; Raja et al., 2019; Agenosov et al., 2018).

Le mécanisme essentiel de la formation des calculs est l'excès de concentration des urines en composés non solubles, conduisant à la précipitation de cristaux, puis agglomération sous forme de calcul. En cas des calculs faits de cystine, de 2,8-dihydroxyadénine (2,8-DHA) ou de struvite, le mécanisme de lithogenèse est mono-factoriel, où il est déterminé par une concentration excessive des urines en ces molécules. Alors qu'il est multifactoriel et complexe dans la lithiase oxalocalcique ou phosphocalcique où il fait intervenir un déséquilibre entre une concentration excessive en solutés promoteurs et une teneur insuffisante en substances inhibitrices de la cristallisation (Jungers et al., 1999). La formation des calculs urinaires passe schématiquement par quatre étapes (selon (Jungers et al., 1999)):

a) La nucléation : est la formation des germes cristallins en urines sursaturés, qui est la plus souvent hétérogène, c'est-à-dire que les cristaux se forment en contact des particules telles que des débris épithéliaux ou cellulaire ou d'autres cristaux préexistants, jouant le rôle d'inducteurs. La nucléation homogène, plus rare, implique une sursaturation très élevée, provoquant la précipitation spontanée des solutés en dehors de toute « amorce ».
b) La croissance des cristaux : ou phénomène de boule de neige, ils mesurent à peine quelques micromètres et s'écoulent librement au cours du transit tubulaire d'urine, dont la durée varie de 5 à 10 minutes, selon le débit de la diurèse. Autrefois, on signale sur un délai trop court les cristaux nucléés dans le tubule peuvent atteindre par une simple croissance une taille suffisante pour provoquer leur rétention dans les tubes collecteurs.
c) L'agrégation des cristaux : il aboutisse à la formation des particules de l'ordre de quelques dixièmes de millimètres. Toutefois, l'agrégation peut se produire en un délai aussi court que 1 minute, conduisent alors à la formation des particules susceptibles d'être retenues dans le tractus urinaire.
d) La fixation : les agrégats formés sont susceptibles de se fixer en un point de l'épithélium du tubule rénal ou à l'extrémité de la papille, et amenant ensuite, par addition des couches successives, à la formation du calcul propre.

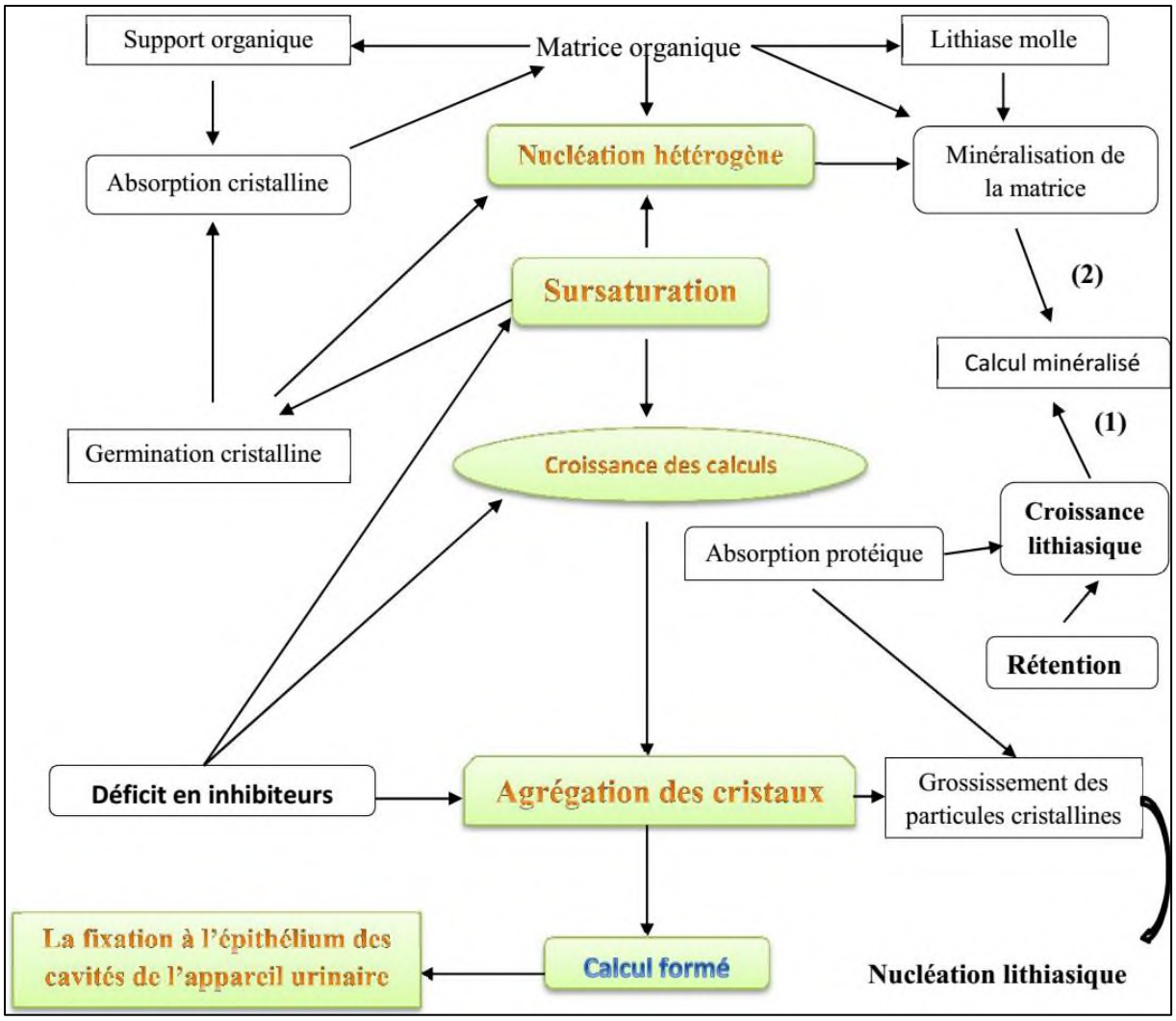


Figure 6: Mécanisme de lithogenèse (Jungers et al., 1999)

Le calcul minéralisé est l'aboutissement :

-soit par la voie (1) dominante, qui est essentiellement sous la dépendance des processus de la cristallisation.

-soit par la voie (2), qui relève de la formation préalable d'une matrice organique, habituellement de

nature protéique, dans les voies excrétrices urinaires.

1.2.2. Insuffisance rénale aiguë fonctionnelle

Représente 55 % des cas. Il s'agit d'une chute de la pression de filtration dans le glomérule, dû à une anomalie de la perfusion rénale sans anomalies du parenchyme rénal. Les

principales causes sont : les déshydratations extracellulaires, hypovolémie réelle ou efficace et IRA hémodynamique (Moulin and Peraldi, 2007).

1.2.3. Insuffisance rénale aiguë organique

Insuffisance rénale aiguë organique, ou parenchymateuse, ou lésionnelle représente 40 à 45 % des IRA. Elle se traduit par des lésions du parenchyme rénal. Dont les principales causes sont la nécrose tubulaire aiguë, la néphrite interstitielle aiguë (infections urinaires), la néphropathie glomérulaire aiguë (œdèmes, les hématuries macroscopique et microscopique) et la néphropathie vasculaire aiguë (Moulin and Peraldi, 2007).

V. Place de la pharmacopée traditionnelle dans le traitement des maladies rénales

1. Données épidémiologiques sur la pharmacopée traditionnelle

La médecine traditionnelle (MT) est très ancienne. C'est la somme de toutes les connaissances, compétences et pratiques reposant sur les théories, croyances et expériences propres à différentes cultures, qu'elles soient explicables ou non, et qui sont utilisées dans la préservation de la santé, ainsi que dans la prévention, le diagnostic, l'amélioration ou le traitement de maladies physiques ou mentales (OMS, 2000).

Selon l'OMS, dans les pays développés, les médecines traditionnelles, complémentaires et parallèles connaissent un succès croissant. Ainsi, le pourcentage de la population ayant eu recours à ces médecines au moins une fois est de 48 % en Australie, 31 % en Belgique, 70 % au Canada, 49 % en France et 42 % aux États-Unis d'Amérique (Shamsuzzoha and Haering, 2007).

En Europe, en Amérique du Nord et dans d'autres régions industrialisées, plus de 50 % de la population a eu recours au moins une fois à la médecine complémentaire ou parallèle. A San Francisco, à Londres et en Afrique du Sud, 75 % des personnes vivant avec le VIH ou le SIDA font appel à la médecine traditionnelle ou à la médecine complémentaire ou parallèle. Soixante-dix pour cent des Canadiens ont eu recours au moins une fois à la médecine complémentaire. En Allemagne, 90 % des gens prennent un remède naturel à un moment ou à un autre de leur vie (OMS, 2003).

En Afrique, les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurales, où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer leurs

soins de santé (Emmanuel et al., 2012; Jiofack et al., 2010; OMS, 2000). En effet, sur les 300000 espèces végétales recensées sur la planète, plus de 200000 espèces vivent dans les pays tropicaux d'Afrique et ont des vertus médicinales (Bellakhdar, 2006).

Dans les pays maghrébins, les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions médicales des habitants de cette région du monde. Le Maroc par sa position géographique et ses conditions climatiques, dispose d'une flore riche et variée constituée de plus de 4200 espèces dont 500 à 600 espèces utilisées en médecine traditionnelle (Fennane, 2004).

Ainsi, le Maroc est un fournisseur traditionnel du marché mondial en plantes aromatiques et médicinales (PAM), cette activité met en exploitation aussi bien des plantes spontanées que des plantes cultivées pour les besoins d'herboristerie et les aromates alimentaires. Plusieurs espèces sont utilisées pour la production des huiles essentielles ou d'autres extraits aromatiques destinés essentiellement à l'industrie de parfumerie et cosmétique ainsi que pour la préparation des produits d'hygiènes et la formulation des arômes (Sghaier, 2014).

L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des maladies rénales est très connue dans plusieurs pays de monde (Bahmani et al., 2016; Naikade et al., 2014; Musabayane, 2012; Mahmood et al., 2011; Palmese et al., 2001).

Dans la région Fès-Meknès, une étude a cité 33 plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies rénales (Jouad et al., 2001a). De plus une autre étude dans la région de Taounate a cité 20 plantes médicinales dans le traitement de la même maladie (El-Hilaly et al., 2003b). Dans les autres régions, un enquête ethnobotanique dans la région de Darâa-Tafilalt a cité 12 plantes dans le traitement des maladies rénales (Eddouks et al., 2002). Cinquante-neuf plantes dans la région de l'oriental ont été mentionnées dans le traitement des maladies rénales (Fakchich and Elachouri, 2014).

2. Monographie des plantes les plus utilisées dans le traitement des maladies rénales

2.1. *Herniaria glabra* L. (Caryophyllaceae)

Herniaria glabra (Nom vernaculaire : Hareset lhjar), est une plante pérenne ou vivace de 5 à 20 cm avec une racine grêle ou un peu épaisse. Les tiges sont grêles, couchées-étalées. Les feuilles

sont glabres, oblongues ou lancéolées, atténuées à la base, opposées, les supérieures ordinairement alternes. Les fleurs très petites, sessiles, forment des glomérules multiflores, oblongs, disposés en grappes le long des ramuscules. Elles apparaissent de mai à septembre. Les sépales sont oblongs, obtus, glabres, jaunâtres intérieurement, étroitement marginés et blanchâtres (Ghédira et al., 2017).



Figure 7: *Herniaria glabra* L. (Ghédira and Goetz, 2017)

2.1.1. Classification

Règne : Plantae

Classe : Equisetopsida

Ordre : Caryophyllales

Famille : Caryophyllaceae

Genre : Herniaria

Espèce : *Herniaria glabra*

2.1.2. Utilisation traditionnelle

Dans plusieurs pays du monde, *Herniaria glabra* est utilisée comme diurétique, antilithiasique urinaire, contre l'ictère, spasmolytique et anti-inflammatoire (Ghédira and Goetz, 2017). Au Maroc plusieurs études ont montré leur utilisations traditionnelles dans le traitement des maladies rénales, l'hypertension et le diabète (Eddouks et al., 2002; Jouad et al., 2001a).

2.1.3. Activité pharmacologique

D'après les travaux de Ghédira et Gotez (2017), *Herniaria glabra* est considérée comme diurétique (et antispasmodique). Elle entre dans la composition du produit Herbensurina® pour la

prévention de la lithiase rénale. La plante a présenté des effets anti-biofilm par l'inhibition de croissance d'Escherichia coli (Ghédira and Goetz, 2017).

L'effet antihypertenseur a été vérifié chez le rat à la dose de 200 mg/kg de saponines après 30 jours de traitement. L'administration orale de l'infusion de *Herniaria hirsuta* à la dose de 100 mg/kg pendant 30 jours a montré une diminution dans la teneur en cholestérol de la bile chez le chien. Dans une étude sur l'inhibition de germes multirésistants, il a été montré que la herniarine de *Herniaria glabra* et le pyrocide de *Daucus carota* ont été identifiés comme les meilleures pistes contre le gène encodant la résistance aux antibiotiques dfrA1 de *Vibrio cholerae* (Ghédira and Goetz, 2017).

2.1.4. Toxicité

L'étude de la toxicité aiguë par voie orale de l'extrait aqueux permet de classer *Herniaria hirsuta* L. parmi les plantes moyennement toxiques ayant des effets thérapeutiques à faible dose. Le seuil de non-observation d'effets secondaires (NOAEL) pour *Herniaria glabra* (extrait aqueux lyophilisé) est de 5 g/kg et le seuil le plus bas (LOAEL) est de 5,5 g/kg (Ghédira and Goetz, 2017). L'administration sub-chronique par voie orale pendant 90 jours à la dose de 4 mg/kg a montré une intoxication histologique dans les reins et le foie des rats (Rhiouani et al., 2008).

2.2. *Zizyphus lotus* L.

Zizyphus lotus (jujubier) (Nom vernaculaire : Nbeg)est un arbuste fruitier, épineux appartenant à la famille des Rhamnacées, de quelques mètres de diamètres (1,3 à 2,2 m) (Ghedira, 2013). Ses feuilles sont courtement pétiolées, glabres, caduques alternées et ovales à marges entières. Les fleurs sont jaunes, pentamètres et groupées en inflorescence cymeuses. Les fruits sont des drupes à noyaux soudés.



Figure 8: Feuilles et fruits de *Zizyphus lotus* (Ghedira, 2013)

2.2.1. Classification

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Rhamnales

Famille : Rhamnaceae

Genre : Ziziphus

Espèce : *Zizyphus lotus*

2.2.2. Utilisation traditionnelle

Les différentes espèces du Ziziphus sont largement utilisées dans le traitement de certaines maladies telles que les maladies inflammatoires, les troubles digestives, la faiblesse, les affections du foie, l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée et l'insomnie (Abdel-Zaher et al., 2005; Suksamrarn et al., 2005; Zarga et al., 1995).

Au Maroc, la plante *Z. lotus* est utilisée traditionnellement dans le traitement du diabète (Barkaoui et al., 2017; Tahraoui et al., 2007; Jouad et al., 2001a), les maladies rénales (Jouad et al., 2001a), les maladies cardiaques et les infections pulmonaires (Abouri et al., 2012).

2.2.3. Pharmacologie

Des recherches actuelles sur les différentes activités pharmacologiques de *Z. lotus* ont ressorti de nombreux effets, de grande importance pour la médecine moderne.

Les flavonoïdes et les saponines extraits de l'écorce des racines du *Z. lotus* ont montré une Activité anti-inflammatoire par l'inhibition maximale de l'œdème chez les rats (Borgi et al., 2008).

Les extraits éthanoliques et méthanoliques de la pulpe du *Z.lotus* ont montré une activité antimicrobienne sur différentes espèces de microorganismes telles que : *Bacillus subtilis, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhi, Escherichia coli, Enterococcus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa* (Rsaissi et al., 2013).

Les extraits aqueux et méthanoliques des feuilles et des écorces de racines de *Z. lotus* ont montré une activité antispasmodique sur le duodénum isolé de rat. Alors que le décocté des feuilles et des écorces de racines a montré une activité antiulcérogène chez le rat (Ghedira, 2013).

2.2.4. Toxicité

L'administration par voie intrapéritonéale d'un extrait aqueux issu des écorces de racines de *Z. lotus* à raison de 50 mg/kg n'entraîne aucune mortalité. La DL50 a été évaluée à 400 mg/kg, tandis qu'une dose de 1 000 mg/kg est responsable de 100 % de mortalité chez la souris (Ghedira, 2013).

2.3.*Opuntia ficus-indica* L. Mill.

Le figuier de Barbarie (Nom vernaculaire : Hendiya) est une plante arborescente robuste de (3 à 5 m) de hauteur. Les cladodes ou les raquettes sont vert-mat de forme elliptique ou ovoïdale et de longueur de (30 à 50 cm), une largeur de (15 à 30 cm) et une épaisseur de (1.5 à 3 cm) (Wallace, 2002). Les fleurs sont hermaphrodites, C'est sur le dessus des raquettes qu'apparaissent de belles et grandes corolles latérales, larges de (4 à 10 cm), de couleur jaune à rouge avec toutes les nuances intermédiaires et deviennent rougeâtres à l'approche de la sénescence de la plante. Dans certaines contrées chaudes et arides la plante fleurit et porte des fruits deux fois dans l'année (Schweizer, 1999).



Figure 9: Figuier de Barbarie : la plante et les fleurs (Inglese, 2018)

2.3.1. Classification

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Caryophyllales

Famille : Cactaceae

Genre : Opuntia

Espèce : *Opuntia ficus-indica*

2.3.2. Utilisation traditionnelle

Le figuier de barbarie ou *Opuntia ficus-indica* est très utilisable dans la pharmacopée traditionnelle dans la cicatrisation de blessures (Kumar et al., 2007), dans le traitement des maladies digestive, rénales, respiratoires, les problèmes musculo-squelettique (González-Tejero et al., 2008) et dans les maladies de la peau (Ali-Shtayeh et al., 2000).

Au Maroc les fleurs et les fruits de la plante sont utilisés dans le traitement traditionnelle du diabète (Barkaoui et al., 2017; Tahraoui et al., 2007; Jouad et al., 2001a) et les maladies rénales (Jouad et al., 2001b). une autre étude a mentionné l'utilisation du figuier de barbarie dans le traitement des Pathologies du système digestif, l'allérgie et comme dermocosmétique (Fakchich and Elachouri, 2014).

2.3.3. Pharmacologie

Les différents extraits des fleurs du figuier de barbarie ont montré une activité antioxydante et anti-inflammatoire élevée (Benayad et al., 2014). L'Activité antiulcérogène du jus de fruits du figuier de barbarie a été montrée chez un groupe des rats recevant une dose de 3 ml / jour pour 9 jours (Galati et al., 2003).

Il a été rapporté que les extraits de fruits et les tiges de cactus manifestaient une activité antitumorale (Hassan et al., 2011). De plus, une étude de Chavez -santoscoy et al. (2009) a indiqué l'extrait d'*Opuntia ficus indica* du Mexique avait également diminué la croissance des fibroblastes normaux utilisés comme témoins (Chavez-Santoscoy et al., 2009). L'étude de Zou et al., a conclu que le cactus de figue de Barbarie de l'Arizona inhibait efficacement la croissance cellulaire dans plusieurs cultures de cellules immortalisées et cancéreuses *in vitro* et supprimait la croissance tumorale (Zou et al., 2005). *Opuntia ficus-indica* a présenté une action neuroprotectrice sur les cellules corticales de rats cultivées primaires (Dok-Go et al., 2003). *Opuntia ficus indica* contient trois flavonoïdes, la quercétine, la (+) - dihydroquercétine et le quercétine 3-méthyléther, qui sont des neuroprotecteurs actifs antioxydants qui exercent une action protectrice envers le système nerveux. Les extraits des cladodes d'*opuntia ficus indica* ont également un effet hépatoprotecteur contre les dommages du foie induits chez la souris par les insecticides organophosphorés (Ncibi et al., 2008).

2.3.4. Toxicité

L'administration aiguë par voie orale d'extrait méthanolique des fleurs d'Opuntia ficus indica à la dose de 3000 mg / kg n'a provoqué aucun effet toxique et aucune mortalité n'a été observée chez les rats (Alimi et al., 2011)

2.4.*Ammodaucus leucotrichus*

Ammodaucus leucotrichus (Nom vernaculaire : Kamoun essoufi)est une plante glabre, annuelle, à tiges dressées, rameuses, finement striées. Les feuilles d'Ammodaucus leucotrichus est très divisées, à lanières étroites, un peu charnues ; involucre à bractées très divisées et petites. Les fruits très velus, portant de longs poils crépus, jaune-roux à la base, puis blancs, de 8 à10 mm de longueur (Ozenda, 1991).



Figure 10 : *Ammodaucus leucotrichus* : plante et fruits

(http ://www.floramaroccana.fr/ammodaucus-leucotrichus.html)

2.4.1. Classification

Règne : Plantae
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Ordre : Apiales
Famille : Apiaceae
Sous-famille : Apioideae
Genre : Ammodaucus
Espèce : *Ammodaucus leucotrichus*

2.4.2. Utilisation traditionnelle

A. leucotrichus est une plante très connue dans la médecine traditionnelle pour les traitements d'allergie, la toux, l'anorexie (Hammiche et al., 2006; Didi et al., 2003), les maladies digestif (Diarrhée, dysenterie – gastrite, indigestion, ulcère intestinal, laxatif , mal de ventre, vomissements, vers / anthelminthique, problèmes de foie, problèmes biliaires), les maladies respiratoires (Asthme, bronchite, douleur thoracique, troubles respiratoires) et d'autres problèmes de santé comme l'obésité, la faiblesse et la fatigue générale (Fakchich and Elachouri, 2014).

Le travail de Jouad et al., (2001) a mentionné l'utilisation des fruits d'*A. leucotrichus* dans le traitement des maladies cardiaques (Jouad et al., 2001a). Une étude récente a rapporté l'utilisation

traditionnelle des fruits d'A. *leucotrichus* pour le traitement du cancer des poumons (Kabbaj et al., 2012).

2.4.1. Pharmacologie

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'A. leucotrichus a été confirmée chez plusieurs souches microbiennes tels que : Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Salmonella typhimurium, Escherichia coli et Enterobacter cloaceae avec des doses minimales inhibitrices comprises entre 0.5 et 1 µm/ml. Ainsi, les huiles de cette plante ont montré une activité antifongique vis-à-vis des champignons filamenteux (Fusarium oxysporum et Aspergillus flavus) avec des valeurs des concentrations minimales inhibitrices comprises entre 0.25 et 0.5 0.5 et 1 µm/ml (El-haci et al., 2014).

2.4.2. Toxicité

L'administration orale d'*A. leucotrichus* à des doses allant jusqu'à 200 mg / kg (dose maximale tolérée) s'est révélée non toxique chez la souris. Cependant, l'augmentation de la dose d'EO a entraîné une augmentation de la mortalité chez les souris traitées, tandis qu'à des doses supérieures à 1 250 mg / kg, tous les animaux succombaient pendant une période de 24h. les HE de *A. leucotrichus* présentaient une action toxique s'étendant sur une période de 1 heure à 6 jours (Mohammedi et al., 2018).

2.5. *Petroselinum crispum*

Petroselinum crispum (Nom vernaculaire : Maâdnous) est une plante bisannuelle fragile, à racine pivotante. Les tiges sont cylindriques finement striées dans le sens de la longueur et très divisées. Les fleurs blanches verdâtres sont réunies en ombelles à 2-12 rayons. Le fruit, gris verdâtre à gris brun est un diakène côtelé (Quezel et al., 1962).



Figure 11 : *Petroselinum crispum*

(Https://www.wikipedia.org/)

2.5.1. Classification

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Apiales

Famille : Apiaceae

Genre : Petroselinum

Espèce : *Petroselinum crispum*

2.5.2. Utilisation traditionnelle

Petroselinum crispum a été utilisé comme plante médicinale pour traiter les maladies gastro-intestinales, les maladies rénales et les maladies de l'appareil urinaire et pour stimuler la digestion (Blumenthal et al., 2000). La racine de *P. crispum* est utilisée comme puissant diurétique (Farmakopeja, 1951). De plus, il est utilisé dans le traitement de la dyspepsie, de la cystite, de la dysménorrhée, de l'aménorrhée fonctionnelle et des myalgies (Bisset, 1994). *P. crispum* est utilisé pour la gestion des troubles menstruels et comme emménagogue, galactagogue et stomacal. Il est également appliqué à l'extérieur contre les poux de tête (Bisset, 1994). Les feuilles de *P. crispum* ont été utilisées comme arôme alimentaire et antitussif, ainsi que dans le traitement des calculs rénaux, des hémorroïdes, des troubles de la vision et de la dermatite (Chauhan et al.). Les feuilles sont également utilisées pour traiter les saignements, l'hypertension, l'hyperlipidémie, les troubles hépatiques et le diabète (Wong et al., 2006).

Dans le système de guérison traditionnel marocain, les feuilles sont utilisées dans l'hypertension artérielle, le diabète, les maladies cardiaques, les maladies rénales, le lumbago, l'eczéma et les saignements de nez (Eddouks et al., 2002; Jouad et al., 2001a; Merzouki et al., 1997; Ziyyat et al., 1997).

2.5.3. Pharmacologie

Les activités antibactériennes et antifongiques de certains composés isolés et extraits de *P. crispum* ont été rapportées (Aljanaby, 2013; Wong and Kitts, 2006; O'Mahony et al., 2005; Kim et al., 1998; Manderfeld et al., 1997).

Les travaux de Seyyednejad et al. ont signalé que 0,1 et 0,2 g / ml d'extrait éthanolique de graines de *P. crispum* présentaient une activité antibactérienne contre *Brucella melitensis* (Seyyednejad et al., 2008). Il a été démontré que l'extrait à l'eau chaude de feuilles de *P. crispum* (250 mg / ml) possédait une activité antimicrobienne contre *P. Aeruginosa* (Aljanaby, 2013). De plus l'extrait aqueux de feuilles de *P. crispum* (0,12 à 8,0%) se sont révélées avoir une activité inhibitrice contre *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Erwinia carotovora* et *Listeria innocua* (Manderfeld et al., 1997).

Les extraits aqueux et méthanoliques de *P. crispum* de feuilles et de tiges ont été identifiés comme possédant une activité antioxydante *in vitro* via les tests de purification de radical DPPH, de chélation des ions et de radical hydroxyle (Wong and Kitts, 2006).

Les études de Tunali et al. (1999) ont rapporté qu'un extrait aqueux de feuilles de *P. crispum* (2 g / kg), empêchait l'augmentation du taux de glucose sanguin chez le rat en utilisant les dosages à la o-toluidine et à l'acide 2-thiobarbiturique (Tunali et al., 1999). L'extrait aqueux de feuilles de *P. crispum* (2 g / kg) a été identifié comme potentialisateur de la peroxydation lipidique et diminuant les niveaux de glutathion dans les lésions oxydatives du cœur et de l'aorte induites par l'hyperglycémie chez le rat via son activité antioxydante dans le tissu cardiaque et l'aorte (Sener et al., 2003). Les flavonoïdes de l'extrait aqueux de *P. crispum* ont été identifiés comme présentant une activité antiplaquettaire chez les animaux lors de l'agrégation plaquettaire *in vitro* et *ex vivo* (Gadi et al., 2012; Gadi et al., 2009). Les huiles essentielles issues de graines de *P. crispum* à des concentrations de 0,01 à 100 µg / ml, présentaient une activité immunomodulatrice par le blocage de la réponse immunitaire cellulaire et humorale en inhibant les splénocytes et les macrophages (Yousofi et al., 2012). L'extrait aqueux de graine de *P. crispum* a montré une activité laxative chez

le rat en réduisant l'absorption de sodium et d'eau lors de l'absorption nette par le fluide du colon du rat. L'extrait a également amélioré l'activité du transporteur Na-KCl_2 dans le côlon du rat (Kreydiyyeh et al., 2001). L'extrait éthanolique de graines de *P. crispum* a montré une activité spasmolytique chez les rats Wistar (Damabi et al., 2010).

2.5.4. Toxicité

Les travaux de Awe et al.(2013) ont signalé que l'extrait éthanolique de feuilles de *P. crispum* montrait des activités hépatotoxiques et néphrotoxiques déterminées par la méthode colorimétrique utilisant le vert de bromocrésol et le clivage à l'uréase (réaction de Berthelot) à des doses orales égales ou supérieures à 1000 mg / kg, mais aucune toxicité n'a été enregistré lorsqu'il est utilisé à des doses plus faibles (Awe et al., 2013).

2.6. *Chamaemelum nobile* L.

Chamaemelum nobile (Nom vernaculaire : Babounj) est une plante herbacée vivace de 10 à 30 cm de hauteur. La racine est vivace, articulée et fibreuse. Les tiges poilues et à ramifications libres sont recouvertes de feuilles qui sont divisées en segments filiformes. Les fleurs apparaissent à la fin de l'été, de la fin juillet à septembre, et sont portées seules sur de longues tiges dressées, tombantes lorsqu'elles sont en bouton. Avec leur frange externe de rayons blancs et leurs centres jaunes. Les fruits sont des akènes jaunâtres, petits et côtelés.



Figure 12 : *Chamaemelum nobile*

(Https ://www.wikipedia.org/)

2.6.1. Classification

Règne : Plantae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Sous-famille : Asteroideae

Genre : Chamaemelum

Espèce *: Chamaemelum nobile*

2.6.2. Utilisation traditionnelle

La Camomille romaine est connue comme plante médicinale depuis le moyen-âge. Elle est classée par le Conseil de l'Europe une source naturelle d'aliments aromatiques (Csupor et al., 2012). Elle est utilisée contre les maux de tête, les douleurs diverses, les maux de dents, et adoucit les yeux et les paupières (Pierre et al., 2016). La plante est également utilisée comme appétissante, protecteur hépatique, analgésique gastrique, antihypertenseur, contre les maladies rénales, contre les affections de la vésicule biliaire et de la vessie (Novais et al., 2004).

2.6.3. Pharmacologie

L'activité antimicrobienne de l'extrait et des huile essentielle de camomille romaine a été confirmée par (Saderi et al., 2003) contre *P. gingivalis*. De plus, L'huile volatile de *C. nobile* a montré une activité élevée contre les nymphes d'aleurodes (*Trialeurodes vaporariorum*) à 0,0047 et 0,0093 µg / ml (Choi et al., 2004).

L'effet hypotenseur de l'extrait aqueux de *C. nobile* chez les patients hypertendus spontanément a été étudié chez le rat. Une administration orale unique de l'extrait aqueux (140 mg / kg) a entraîné une réduction significative ($p < 0,05$) de la pression artérielle systolique (PAS) au bout de 24 h (Zeggwagh et al., 2009). L'effet anti-inflammatoire des polysaccharides isolés de l'extrait aqueux de fleurs de *C. nobile* a été étudié chez le rat. Le polysaccharide des fleurs et des herbes a été administré par voie intra péritonéale à une dose de 10 mg / kg. Ils ont réduit l'inflammation de la patte de 36,2 et 37,7%, respectivement par rapport aux témoins non traités (Tognolini et al., 2006; Lukacs, 1990). En effet, une dose unique et d'une dose orale quotidienne (20 mg / kg de poids corporel) pendant 15 jours de la partie aérienne de l'extrait aqueux de *C. nobile* sur les concentrations de glucose dans le sang et les taux d'insuline basale chez les rats normaux, induits par la streptozotocine ont été étudiés. L'administration orale unique d'extrait aqueux de *C. nobile*

a réduit la glycémie de 21,1 ± 1,3 mmol / l à 14,5 ± 0,9 mmol / l (p <0,001) chez des rats diabétiques STZ (Eddouks et al., 2005). Le glucoside flavonoïde chamaemeloside a une activité hypoglycémique *in vivo* (König et al., 1998). Chez la souris, l'apigénine avait une nette affinité pour les récepteurs centraux aux benzodiazépines. L'apigénine a inhibé de manière compétitive la liaison du flunitrazépam, une benzodiazépine, mais n'a eu aucun effet sur les récepteurs muscariniques, les récepteurs alpha 1 adrénergiques ou la liaison du muscimol aux récepteurs GABA. L'apigénine avait une activité anxiolytique nette chez la souris sans incidence de sédation ni d'effet de relaxation musculaire à des doses similaires à celles utilisées pour les benzodiazépines classiques ; aucune action anticonvulsive n'a été détectée. L'augmentation des doses a entraîné une sédation légère et une réduction de l'activité locomotrice ambulatoire (Viola et al., 1995; Rossi et al., 1988).

2.6.4. Toxicité

L'administration orale des doses allant jusqu'à 1 000 mg / kg d'extrait des huiles essentiels de *Chamaemelum nobile* n'ont pas provoqué aucune mortalité. De même, aucune mortalité n'a été observée chez les souris après l'administration orale des doses de 1000, 1600, 2900 et 5000 mg / kg. De plus, aucun changement physique et comportemental n'a été noté après 30 minutes de l'administration orales d'extraits. Ainsi, la DL50 a été estimée supérieure à 5000 mg / kg (Aremu et al., 2018).

2.7. Rosmarinus officinalis

R. officinalis (Nom vernaculaire : Azir) est un arbrisseau, touffu, toujours vert (feuilles persistantes), xérophyte, très aromatique, de 50 cm à 2 m de hauteur. Les tiges sont ligneuses, subarrondies, à écorce brun foncé, avec des feuilles sessiles opposées, lancéolées, étroites et entières (d'en moyenne 3 cm sur 3 mm). Les feuilles ont des bords fortement réfléchis et sont coriaces, vert foncé et chagrinés sur le dessus, blanchâtres et tomenteuses sur la face inférieure où la nervure médiane est saillante. Les fleurs, groupées par trois ou quatre, sont disposées à l'aisselle des feuilles, vers le sommet des rameaux en courtes grappes, axillaires et terminales formant un ensemble spiciforme. Elles ont des bractées lancéolées, velues, subsessiles et caduques.



Figure 13: Planche botanique de *Rosmarinus officinalis*

(https://fr.wikipedia.org/wiki/Romarin)

2.7.1. Classification

Règne : Plantae

Classe : Equisetopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : Rosmarinus

Espèce : *Rosmarinus officinalis*

2.7.2. Utilisation traditionnelle

Les feuilles de romarin ont de nombreuses utilisations traditionnelles basées sur leurs actions antibactériennes et spasmolytiques. Utilisé par voie orale pour le traitement des douleurs dyspeptiques, et dans des applications externes pour la prise en charge des douleurs rhumatismales et des troubles circulatoires (Begum et al., 2013). Il est utilisé comme cholagogue, diaphorèse, digestif, diurétique, emménagogue, laxatif et tonique, également utilisé dans le traitement des maux de tête, des troubles menstruels, des troubles menstruels nerveux, de la fatigue et du souvenir anxieux , entorses et contusions (Begum et al., 2013). La partie aérienne est utilisée également

comme Digestif, diurétique, antiseptique oculaire, cardiotonique, antihypertenseur, sédatif, protecteur hépatique, pour les maux de tête, dépuratif de sang (Novais et al., 2004).

Au Maroc, *R. officinalis* est utilisé dans le traitement du diabète, l'hypertension, des troubles gastro-intestinaux, des maladies du foie et l'allergie. Il est utilisé comme emménagogue, antispasmodique, diurétique et dermo-cosmétique (Fakchich and Elachouri, 2014; Tahraoui et al., 2007; Jouad et al., 2001a; Ziyyat et al., 1997). De plus la plante est employée dans le traitement traditionnelle des maladies cardiaques (Eddouks et al., 2002).

2.7.3. Pharmacologie

Il est scientifiquement prouvé que la plante possède une activité anti-inflammatoire (Lo et al., 2002), antioxydante (del Baño et al., 2003), antihépatotoxique (Fahim et al., 1999), antinéphrotoxique (Makino et al., 2002), antimicrobienne (Mangena et al., 1999), antitrypanosomienne (Abe et al., 2002), antitumorale (Singletary et al., 1991), antiulcéreuse (Dias et al., 2000), diurétiques (Haloui et al., 2000), antispasmodiques (Lis-Balchin et al., 1996), ostéoclastiques (Mühlbauer et al., 2003), induction enzymatique (Debersac et al., 2001), effets œstrogéniques (Zhu et al., 1998), un pouvoir stimulant immunitaire (Hur et al., 2004).

2.7.4. Toxicité

L'emploi culinaire de Romarin, sous forme de feuilles ou d'HE (maximum 20 gouttes par jour), ne présente à priori aucune toxicité aiguë ou chronique (Teuscher et al., 2005). Les feuilles ont une faible toxicité, mais cependant non négligeable. Elles ont une action très tonique presque excitante, empêchant le sommeil. L'extrait alcoolique de Romarin et la poudre de la plante ne sont pas toxiques ; les jeunes pousses peuvent être administrées sous forme de lyophilisat à une dose maximale de 22 g/kg. L'HE de Romarin contenant du camphre (et de l'eucalyptol) n'est pas toxique, mais peut engendrer des crises d'épilepsie (Bruneton, 2009; Rombi et al., 1998).

2.8. Lavandula officinalis

La lavande (Nom vernaculaire : Khzama), également connue sous le nom de lavande médicinale, vraie lavande ou lavande ordinaire (*Lavandula angustifolia, L. officinalis, L. vera*) est une plante vivace sous-arbrisseau de la famille des Lamiaceae, avec une racine pivotante. Les tiges sont de 15 à 20 cm, et sont dépourvues de feuilles au-dessous des inflorescences. Les hampes florales sont courtes et fines et ne portent qu'un seul épi. Les feuilles sont persistantes, étroites et

longues, elles mesurent entre deux et cinq centimètres. Les fleurs sont disposées en épi de six à dix groupes et sont soutenues par des bractées aussi longues que larges.



Figure 14: Planche de *lavandula officinalis*

(Https://www.wikipedia.org/)

2.8.1. Classification

Règne : Plantae

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Sous-famille : Nepetoideae

Genre : Lavandula

Espèce : *Lavandula officinalis*

2.8.2. Utilisation traditionnelle

Lavandula officinalis est utilisée traditionnellement dans le traitement des maladies respiratoire, dermatologique, les troubles musculo-squelettiques (González-Tejero et al., 2008), le diabète, l'hypertension (Tahraoui et al., 2007). Elle est employée également comme sédative, spasmolytique, antiseptique externe, antihystérique, diurétique et pour les maladies rénales et rhumatismales (Abouri et al., 2012; Leporatti et al., 2003).

2.8.3. Pharmacologie

Les fleurs de *L. officinalis* exercent diverses activités biologiques et pharmacologiques telles que l'activité antitumorale, anti-inflammatoire, antihistaminique, antidiabétique et antimicrobienne et la modulation du système nerveux central (Tahraoui et al., 2007; Tawaha et al., 2007; Munchid et al., 2005; Hajhashemi et al., 2003; Haloui et al., 2000; Bellakhdar et al., 1991).

2.8.4. Toxicité

L'administration orale des doses allant jusqu'à 500 mg/kg des extraits éthanoliques et aqueux de *L. officinalis* chez le rat n'a pas des effets toxiques (Alnamer et al., 2012). Certaines études ont montré que la lavande est généralement responsable de la dermatite. Une étude menée au Japon sur une période de 9 ans a révélé que jusqu'à 13,9% des sujets présentaient une dermatite de contact exposée à l'huile de lavande (Sugiuraet al., 2000).

3. Pharmacopée traditionnelle et le risque de néphrotoxicité

La néphrotoxicité peut être définie de façon très large comme l'ensemble des altérations fonctionnelles ou structurelles rénales, induites directement ou indirectement par des agents chimiques ou leurs métabolites (dans notre cas, il s'agit de substances des plantes médicinales), qui sont absorbés dans l'organisme quelle qu'en soit la voie de pénétration

Plusieurs facteurs expliquent la vulnérabilité du rein aux toxines contenues dans les plantes médicinales à savoir : le PH urinaire, le débit sanguin rénal, la surface de l'endothélium rénal, l'activité métabolique importante du rein, l'absorption active des toxines par les cellules tubulaires rénales et leur accumulation au niveau de l'interstitium médullaire (Singh et al., 2011)

Les lésions rénales induites par les plantes médicinales peuvent être réversibles ou définitives et intéresser le glomérule, le tubule et l'interstitium, ces deux dernières structures

étant les plus fréquemment impliquées. Une atteinte vasculaire directe peut être parfois en cause et l'ischémie rénale qui en résulte peut générer des lésions tubulo-interstitielles secondaires (Bouzouita, 2016)

Les études de Singh et al. ont proposé une classification des mécanismes de néphrotoxicité des plantes médicinales (Singh and Prakash, 2011) :

3.1. Plantes médicinales directement néphrotoxiques

3.1.1. Néphropathie à l'acide aristolochique

L'acide aristolochique est un acide nitrophénanthrénecarboxylique qui forme des adduits à l'ADN dans les tissus rénaux et autres après activation métabolique. Les adduits d'ADN entraînent des mutations génotoxiques entraînant un carcinome urothélial ainsi qu'une fibrose interstitielle rénale caractéristique et une perte importante de tubules corticaux. Plusieurs autres plantes, en particulier des genres Asarum et Bragantia, contiennent de l'acide aristolochique. Les patients présentent une insuffisance rénale, une augmentation modérée de l'urée sanguine, une protéinurie légère, une anémie sévère et des sédiments urinaires. La glycosurie et la protéinurie stérile sont courantes et indiquent généralement un dysfonctionnement tubulaire. La maladie progresse rapidement jusqu'à l'insuffisance rénale terminale. Aucune thérapie n'a été jugée efficace, bien qu'un effet bénéfique avec les stéroïdes ait été suggéré. La transplantation rénale est efficace chez les patients qui évoluent vers une insuffisance rénale terminale et aucune récidive n'a été rapportée dans le rein transplanté (Nortier et al., 2015).

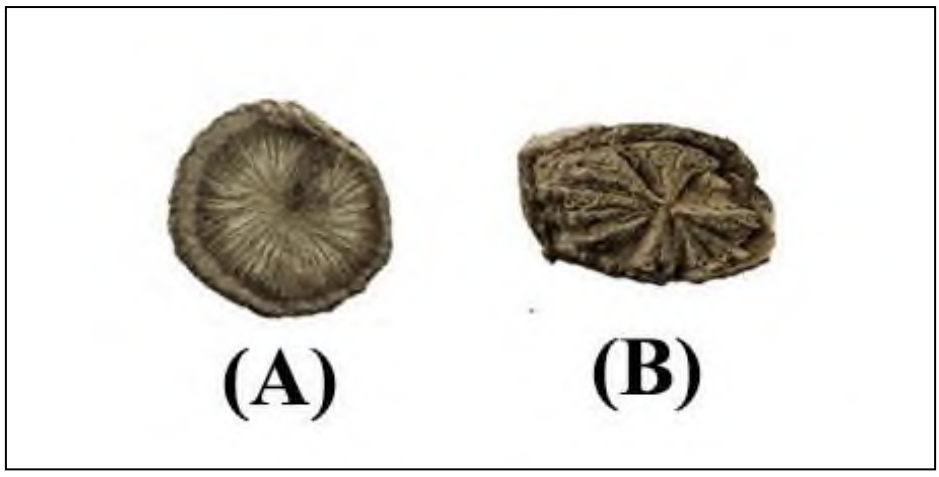


Figure 15: Racines des deux plantes médicinales utilisées dans la phytothérapie traditionnelle chinoise appelées «fang ji»: a) *Aristolochia fangchi* et b) *Stephania tetrandra* (Tankeu et al., 2016)

3.1.2. Intoxication par *Callilepis laureola*:

C'est une plante utilisée comme remède traditionnel en Afrique du Sud pour traiter de nombreuses maladies tels que les maladies sexuellement transmissibles et la stérilité. Elle est aussi donnée pendant la grossesse pour faciliter l'accouchement. Elle a une toxicité hépatique et rénale marquée. En fait, c'est l'une des causes les plus courantes de l'insuffisance rénale aigue en Afrique du Sud. Les symptômes apparaissent entre 1 à 4 jours dans plus de 70% des cas se manifestant par des nausées et des vomissements suivis d'une hypoglycémie entraînant des troubles de conscience et des convulsions. Malgré la disponibilité du traitement, cette néphrotoxicité entrainent une mortalité élevée (>50 %) (Singh and Prakash, 2011). Les deux principaux composés toxiques isolés de cette plante sont l'atractyloside (ATR) et le carboxy-atractyloside (Popat et al., 2001)



Figure 17: Fleur de *Callilepis laureola* (http://www.ethnopharmacologia.org)

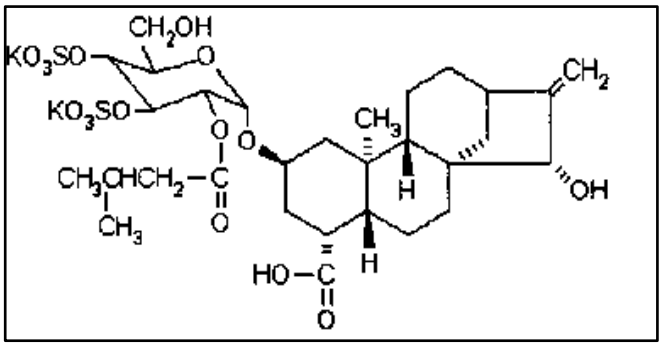


Figure 16: Structure chimique de l'atractyloside (Popat et al., 2001)

3.1.3. Griffe de chat (*Uncaria tomentosa*)

Il s'agit d'une plante péruvienne utilisée pour le traitement traditionnel de la gastrite, les rhumatismes, la cirrhose, la gonorrhée et les cancers du tractus génital féminin. La néphrotoxicité de cette plante se traduit par une insuffisance rénale aiguë. Des études sur biopsie rénale après l'ingestion de cette plante montrant une néphrite interstitielle aiguë.



Figure 18: *Uncaria tomentosa* (Feuilles)

(https://www.wikipedia.org)

3.2. Plantes médicinales entraînant des dyskaliémies :

3.2.1. Racine de réglisse (*Glycyrrhiza glabra*)

À fortes doses et lorsqu'il est utilisé pendant de longues durées, il provoque un effet semblable à l'aldostérone, entraînant une rétention de sodium et une hypertension et une hypokaliémie conséquentes. La racine de réglisse contient de l'acide glycyrrhizique qui est hydrolysé en acide glycyrrhéténique qui, à son tour, inhibe la 11-hydroxystéroïde déshydrogénase rénale, empêchant ainsi l'inactivation du cortisol en cortisone. L'accumulation de cortisol dans le rein stimule les récepteurs de l'aldostérone dans les cellules du canal collecteur cortical résultant de la réabsorption insodique (Singh and Prakash, 2011).



Figure 19: *Glycyrrhiza glabra* (plante et racines)

(https://www.wikipedia.org)

3.2.2. Plantes laxatives

Le séné (*Senna Alexandrina*) et la rhubarbe (*Rheum officinale*) qui sont utilisés comme laxatifs peuvent entraîner un déséquilibre électrolytique, en particulier l'hypokaliémie.

3.3. Plantes médicinales favorisant la formation de calculs rénaux

Ces plantes sont riches en acide oxalique favorisant ainsi la formation de lithiases oxaliques. Nous pouvons donner comme exemple : la rhubarbe (*Rheum officinale*) et la carambole (*Averrhoa carambola*).

3.4. Plantes médicinales à activité diurétique

Baie de genièvre (*Juniperus communis*), persil (*Petroselinum crispum*), pissenlit (*Taraxacum officinale*), prêle (*Equisetum arvense*), racine d'asperge (*Asparagus officinalis*), racine de livèche (*Levisticum officinale*), verge d'or (*Solidago virgaurea*), la busserole (*Arctostaphylos uva-ursi*), la feuille d'ortie (*Urtica dioica*) et la luzerne (*Medicago sativa*), elles sont traditionnellement utilisées comme dépuratives. Ces plantes ont différents degrés d'activité diurétique et leur utilisation requiert de la prudence chez les individus en bonne santé ainsi que chez le patient présentant une insuffisance rénale. Certaines de ces plantes agissent comme des irritants pour les cellules tubulaires tandis que d'autres peuvent altérer les électrolytes sériques. Les baies de genièvre contiennent de la terpine-4-ol qui peut provoquer une irritation rénale et des dommages excessifs. En Allemagne, le persil et la verge d'or sont indiqués pour l'irrigation systémique des voies urinaires et pour la prévention des calculs rénaux. L'effet diurétique des racines et des feuilles du persil est dû à ses composants volatils de l'huile, la myristicine et l'apiole.

3.5. Principales plantes néphrotoxiques au Maroc

Au Maroc, plusieurs plantes néphrotoxiques sont utilisables pour la phytothérapie traditionnelle de différentes maladies, tels que Aristolochia longa comme anticancéreuse, Nigella sativa pour les problèmes digestifs et Ricinus communis comme antidiabétique. Le Tableau 3 illustre les principales plantes marocaines impliquées dans la néphrotoxicité :

Tableau 3: Principales plantes néphrotoxiques au Maroc

Plante	Usage traditionnel	Néphrotoxicité
Nom scientifique : *Aristolochia longa* L Nom vernaculaire Marocain : Bereztem	Abortives et emménagogues (Heinrich et al., 2009) Anticancéreuse (Benzakour et al., 2011)	Néphrite tubulo-interstitielle Fibrose et atrophie tubulaire sévère (Nortier et al., 2015)
Nom scientifique :	Emménagogues (Bellakhdar, 1997)	Nécrose tubulaire aiguë

Rosmarinus officinalis L Nom vernaculaire Marocain : Azir	Antidiabétique (Benkhnigue et al., 2014)	(Zoral et al., 2018)
Nom scientifique : *Nigella sativa* L Nom vernaculaire Marocain : Sânouj	Problèmes digestifs (Gilani et al., 2001) Hypertension artérielle (Dehkordi et al., 2008) Asthme (Boskabady et al., 2010) Anticancéreuse (Bamosa et al., 2010)	Insuffisance rénale aiguë (Études des cas) (Onan et al., 2015; Arslan et al., 2013)
Nom scientifique : *Peganum harmala* L Nom vernaculaire Marocain : L'Harmel	Emménagogues, Antidiabétique Sédatifs, Antiseptiques (Gouaz, 2017)	Génito-urinaires (oligurie, anurie, hématurie) (Achour et al., 2012)
Nom scientifique : *Ricinus communis* L Nom vernaculaire Marocain : Kharwâa	rhumatismes, le diabète, l'ictère, les troubles des reins et de la vessie (Hammiche et al., 2013)	insuffisance rénale par nécrose tissulaire (Moshiri et al., 2016)
Nom scientifique : *Salvia officinalis* L Nom vernaculaire Marocain : Salmiya	les aménorrhées, la ménopause, les dystonies neuro-végétatives, les insuffisances cardiaques et arythmies (Aouadhi, 2010)	Nécrose tubulaire aiguë (Radulović et al., 2017)
Nom scientifique : *Artemisia herba-alba* Nom vernaculaire Marocain : Chih	Troubles gastriques, ballonnement intestinal, pyrosis, constipation, leucorrhées, verrues, oxyuroses(Aouadhi, 2010)	Nécrose tubulaire aigue (Aloui et al., 2010)
Nom scientifique : *Urtica dioica* L Nom vernaculaire Marocain : Horiga	Rhumatismes, chute des cheveux et les ongles cassants, acné, eczéma, troubles de la miction accompagnant les adénomes de la prostate et anémie	Nécrose tubulaire aigue par déshydratation et des troubles électriques (Dar et al., 2013)
Nom scientifique : *Herniaria glabra* Nom vernaculaire Marocain : Heraset lhjar	Anti-lithiasique	Néphrotoxique (Touiti et al. ,2018)

Partie II : Screening phytochimique des plantes et évaluation de la toxicité

I. Principales méthodes d'extraction

Pour extraire les principes actifs des plantes, plusieurs méthodes d'extraction peuvent être mises en œuvre :

1. Méthodes traditionnelles

La macération : consiste à laisser tremper la partie utile de la plante dans de l'eau à une température ambiante pendant 24 heures pour en extraire les principes actifs. La macération peut même durer plusieurs années.

La décoction : consiste à faire bouillir la partie utile de la plante dans de l'eau pour en extraire les principes actifs. Elle peut durer quelques secondes à plusieurs heures selon la substance.

L'infusion : consiste à verser de l'eau bouillante sur la partie utile de la plante pour en extraire les principes actifs. L'infusion peut durer quelques secondes à quelques minutes. Au-delà, elle devient une macération.

2. Méthodes scientifiques

2.1. Lixiviation (Extrait fluide)

Cette technique a pour but de passer un solvant (l'eau) par gravité à travers la matière végétale. Le liquide ainsi entraine avec lui les principes actifs solubles. Cette opération se réalise en général à température ambiante, mais sous une pression réduite afin de permettre en même temps d'extraire le maximum de principes actifs, mais aussi de les préserver car une partie des composants végétaux sont sensibles à la chaleur. Cette technique permet de concentrer le produit sous forme liquide et de le conserver dans le temps (Mouillé-Richard, 2014).

2.2. Extraction par Soxhlet

L'appareillage Soxhlet permet l'extraction aux solvants « en continu » des constituants chimiques contenues dans une matrice solide. La matière végétale, placée dans une cartouche poreuse à l'intérieur de l'extracteur, est traversée par les vapeurs de solvant. Celles-ci passent du ballon chauffé au tube adducteur puis se condensent dans le réfrigérant. Le condensat s'accumule

dans le corps de l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du siphon, entrainant alors le retour du liquide dans le ballon. Au fil des cycles, le solvant s'enrichit en substances extraites jusqu'à épuisement de la matière végétale en substances d'intérêt (Venturini, 2012). L'extraction par Soxhlet est une technique générale et bien établie, et qui dépasse en performance les autres techniques conventionnelles d'extraction, excepté dans le cas de l'extraction des composés thermolabiles (De Castro et al., 1998). Un système conventionnel de Soxhlet est représenté sur la Figure 12 :

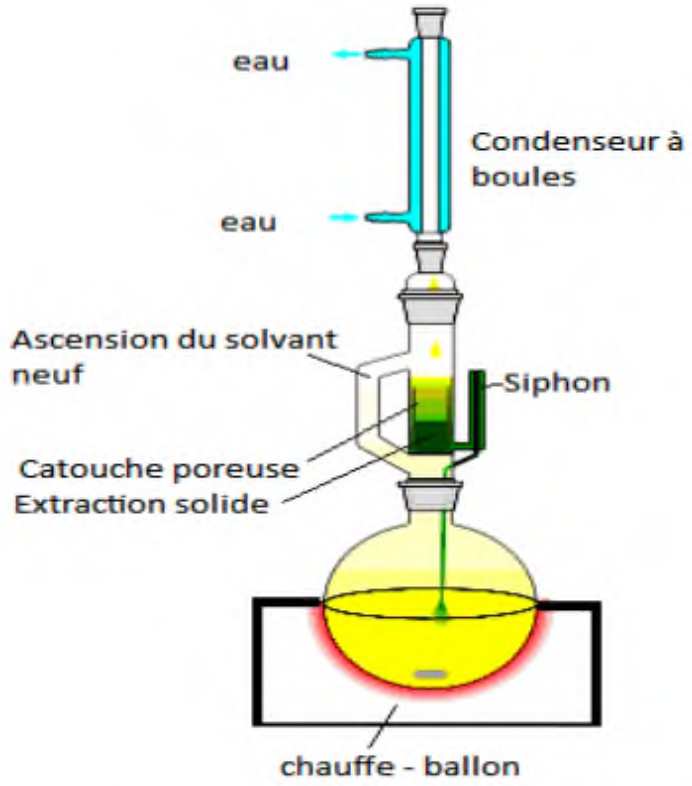


Figure 20: Schéma d'un extracteur soxhlet.

2.3. Extraction par ultra-sons

Le principe de l'extraction assistée par ultra-sons est analogue à celui d'une extraction aux solvants ; toutefois, les vibrations provoquées par les ultrasons permettent d'extraire plus rapidement les constituants (Cuoco et al., 2009; Lee et al., 2007).

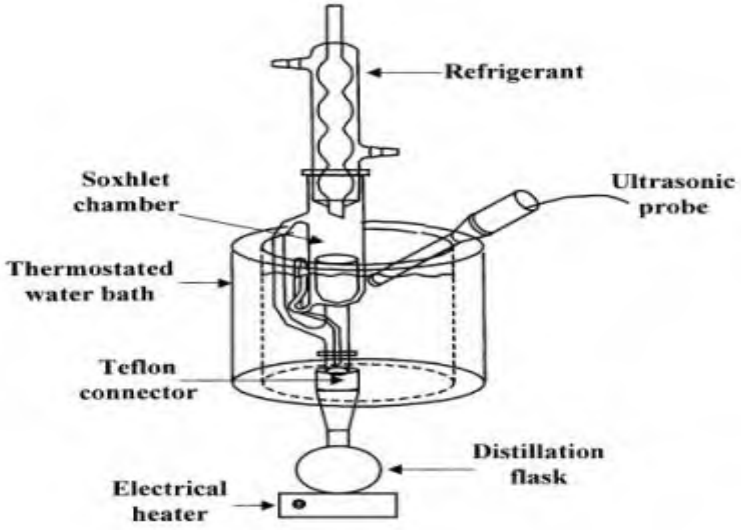


Figure 21: Extracteur assisté par ultrason (Luque-Garcıa et al., 2004)

2.4. Extraction par Likens-Nickerson

Le mode d'extraction Likens-Nickerson est basé sur une utilisation combinée de l'hydrodistillation et de l'extraction aux solvants (Mouillé-Richard, 2014). Cette technique est généralement utilisée en agroalimentaire pour l'extraction des composés organiques volatils tels que ; les parfums et arômes contenus dans des échantillons solides (fruits, légumes, graines, etc.) (Sinyinda et al., 1998; Núñez et al., 1984) ou liquides (miels, liqueurs, etc.) (Bosch-Fusté et al., 2007; Bouseta et al., 1995). Les composés volatiles sont dilués dans le premier ballon et entrainés avec la vapeur, alors que le deuxième ballon est utilisé pour chauffer simultanément un solvant organique non miscible avec l'eau les flux de vapeur d'eau et de solvant sont mélangés et condensés dans le réfrigérant. Le solvant chargé de composés organiques entraînés par la vapeur retourne dans le ballon du solvant, et l'eau dans l'autre.

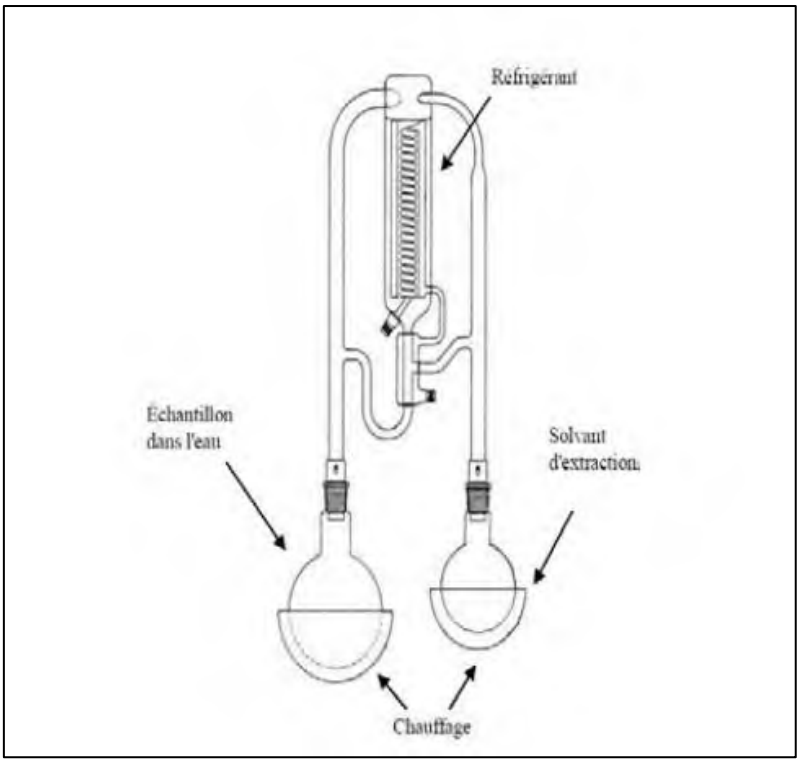


Figure 22: Système d'extraction Likens-Nickerson (MacLeod et al., 1982)

II. Méthodes d'identification des molécules bioactives

1. Méthodes colorimétriques

Analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation. Celle-ci est effectuée sur des matières végétales sèches et/ou fraîches selon la méthodologie décrite par Houghton & Raman (1998).

Le Tableau 4 indique les différents groupes chimiques recherchés et les réactifs spécifiques utilisés.

Tableau 4: Réactifs spécifiques et réactions du criblage phytochimique

Groupe chimique	Réactifs	Résultats positifs
Tanins	FeCl3	Coloration bleu-foncée , verte ou noire
Alcaloides	Mayer	précipité
Flavonoides	Shinoda (réaction à la cyanidine)	Coloration orangée, rouge ou violette
Saponosides	…	Détermination de l'Indice Mousse (IM)---> test positif si IM>100

Stéroides et terpènes	Libermann-Burchard (anhydride acétique-H2SO4, 50:1)	Coloration violette-bleue ou verte
Dérivés quinoniques	Bornträger (réaction entre cycles quinoniques en milieu NH4OH)	Coloration rouge violacée
Coumarines	Extraits chloroformiques ---> CCM (toluène / AcEt (93:10))	Visualisation du chromatogramme en 365 nı
Glycosides cardiaques	H2SO4	coloration brun-rougeâtre
Mucilage	Alcool absolu	précipité floconneux

2. Méthodes spectrophotométriques

Le principe de dosage par spectrophotomètre est basé sur la mesure de l'absorbance ou la densité optique d'une molécule donnée dans une solution.

2.1.Spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie UV-visible est une technique analytique basée sur la mesure du changement de l'intensité de la lumière traversant une solution colorée, dans un domaine d'application compris entre 200 et 800 nm, pour déterminer les concentrations (Yahiaoui, 2012). Le résultat correspond à des spectres d'émission ou d'absorption, qui ressemble à des courbes de variation d'absorption en fonction de la longueur d'ondes, il est obtenu par un spectrophotomètre à une lumière sensiblement monochromatique, ou le chromophore est le site dont la structure de l'élément à étudier possède l'aptitude à absorber les photons UV ou visible.

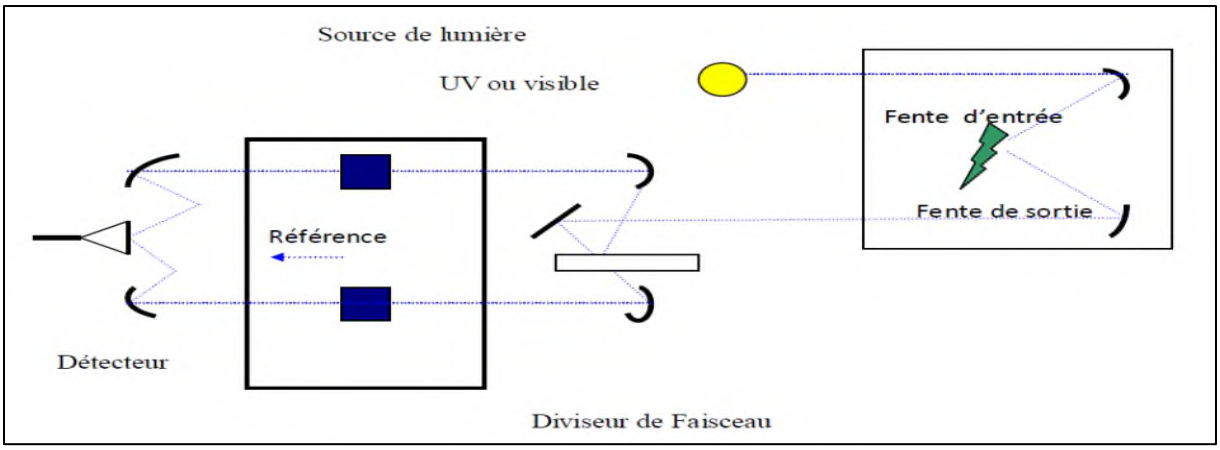


Figure 23: Schéma de principe d'un spectrophotomètre à double faisceau (BENAISSA, 2011)

2.2. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) est extrêmement utile pour l'identification et l'analyse de composés organiques. Le principe sur lequel repose cette forme de spectroscopie est simple. Les noyaux de nombreux types d'atomes agissent comme de minuscules aimantes et ont tendance à s'aligner dans un champ magnétique. En spectroscopie RMN, nous mesurons l'énergie nécessaire pour modifier l'alignement des noyaux magnétiques dans un champ magnétique (Jackman et al., 2013).

2.3. Spectroscopie de masse

La spectrométrie de masse est une technique qui consiste à mesurer le rapport masse sur charge (m/z) des ions formés lors de l'ionisation d'un échantillon. La spectrométrie de masse permet d'identifier la structure chimique et de quantifier les molécules recherchées en les fragmentant (De Hoffmann, 2000).

3. Méthodes chromatographiques

3.1.Chromatographie sur couche mince (CCM)

Cette méthode est basée sur la séparation des différents constituants selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en générale un mélange de solvant ; adapté au type de séparation recherché et leur affinité vis-à-vis de la phase stationnaire. Lorsque la plaque sur laquelle on dépose l'échantillon est placée dans la cuve, la phase mobile monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque

composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques et d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile. Généralement, en CCM, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires.

3.2.Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La CPG est la méthode de choix pour la séparation des molécules volatiles (analytes) d'un mélange, elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme (Cakir, 2004; Tian et al., 2004). La séparation a lieu dans des colonnes capillaires qui possèdent un fort pouvoir résolutif parfaitement adaptée aux mélanges complexes volatils. Chaque constituant est caractérisé par des indices calculés à partir d'une gamme d'alcanes ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante ou en programmation de température (indices de rétention, Ir).

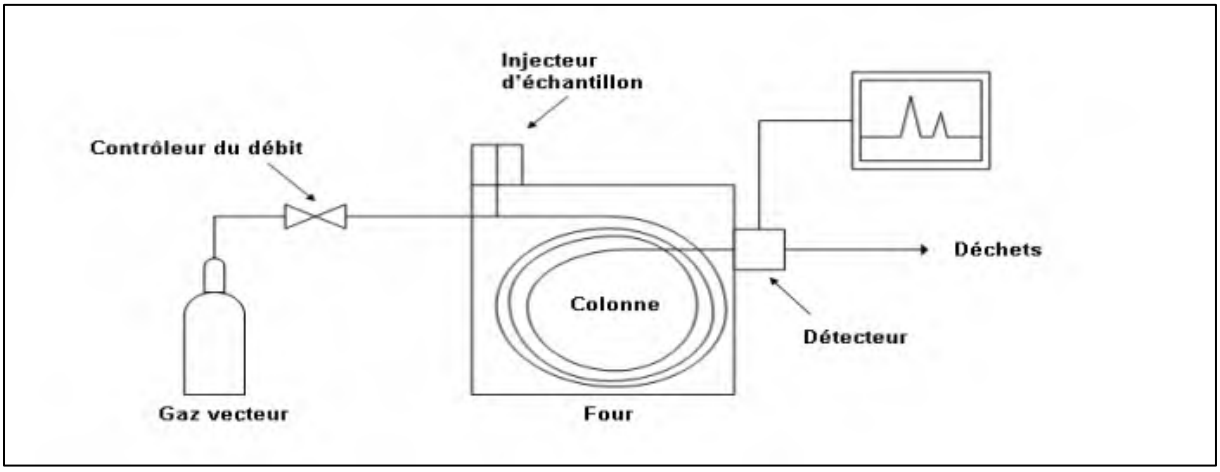


Figure 24: Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse (Penchev, 2010)

3.3.Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une technique d'analyse chromatographique dont le principe est basé sur la répartition du composé à analyser, entre une phase mobile liquide et une phase stationnaire très finement divisée. Cette méthode analytique doit son impressionnant développement à sa rapidité, sa simplicité, son cout relativement peu élevé et l'ampleur de son domaine d'application en tant qu'une méthode de séparation (BENAISSA, 2011).

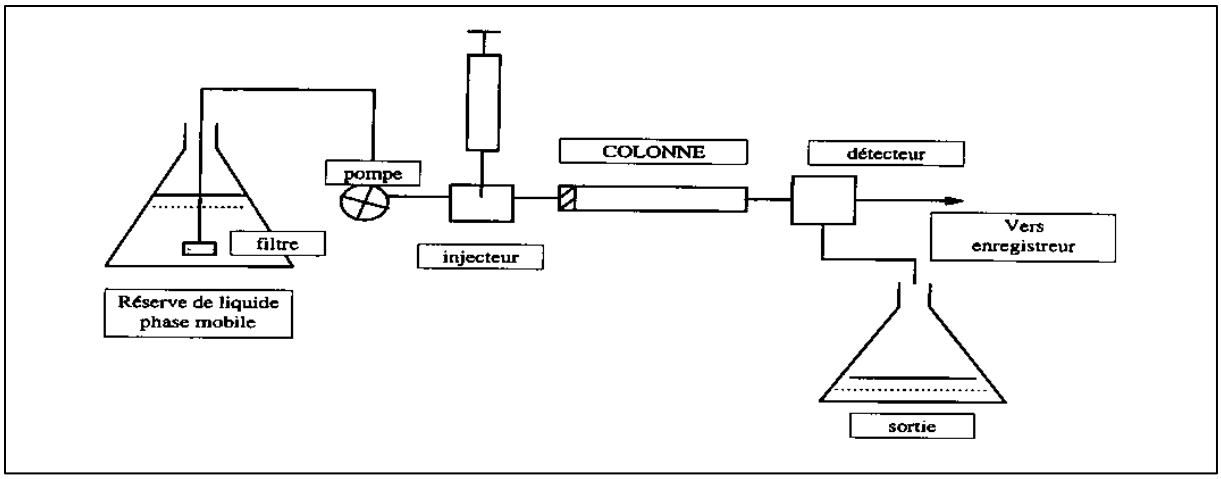


Figure 25: Principe de fonctionnement d'un chromatographe HPLC (BENAISSA, 2011)

3.4. Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS)

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse. L'échantillon est séparé par LC et les espèces d'échantillon séparées sont pulvérisées dans une source d'ions à pression atmosphérique, où elles sont converties en ions en phase gazeuse. L'analyseur de masse est ensuite utilisé pour trier les ions en fonction de leur rapport masse sur charge et le détecteur compte les ions sortant de l'analyseur de masse et peut également amplifier le signal généré par chaque ion. Il en résulte un spectre de masse (représentation graphique du signal ionique en fonction du rapport masse sur charge), utilisé pour déterminer la nature élémentaire ou isotopique d'un échantillon, des masses de particules et de molécules, et élucider les structures chimiques des molécules (Kumar et al., 2014).

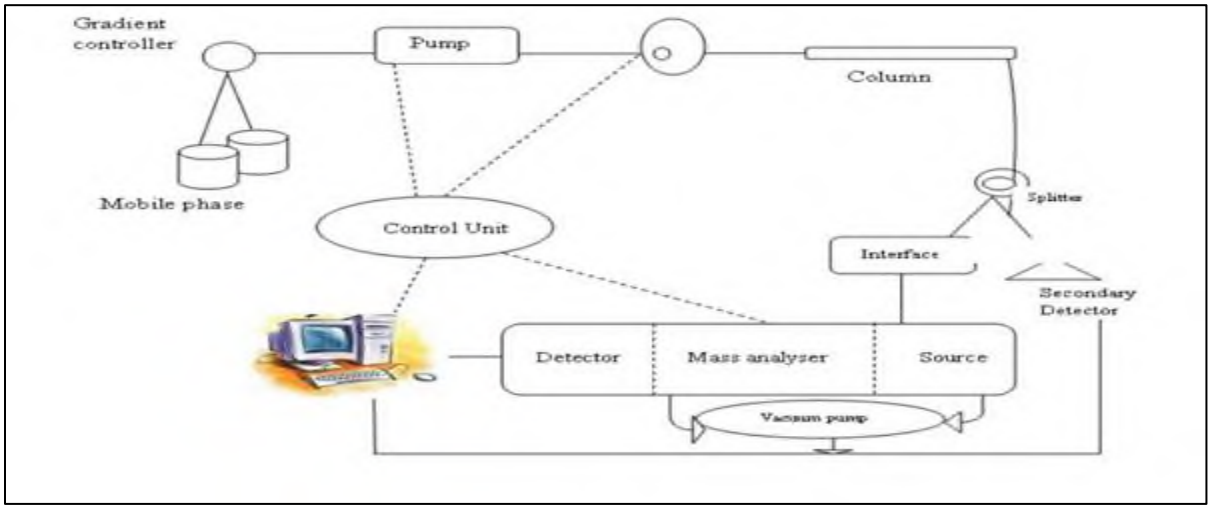


Figure 26: Principe de fonctionnement d'un LC-MS (Kumar and Vijayan, 2014)

III. Modèles animaux pour l'évaluation de la toxicité

1. Choix du modèle animal

L'attitude envers l'expérimentation animale en pharmacologie et en toxicologie a considérablement évolué au cours des dernières décennies et fait l'objet d'un examen minutieux de la part du public. En particulier, au cours des 10 dernières années, l'attention s'est portée de plus en plus sur les 3R (réduction, régénération et remplacement) et sur les critères d'évaluation sans cruauté de l'expérimentation animale. Ceci est particulièrement important dans les disciplines de la pharmacologie et de la toxicologie, dans lesquelles de nombreuses expériences sont menées chez des animaux de laboratoire conscients. Toutefois, ces dernières années, l'accent a été mis sur des objectifs humains et l'évolution de l'usage des analgésiques et des anesthésiques a permis de réduire considérablement le fardeau sur les animaux.

Aucun modèle animal pharmacologique ou toxicologique idéal n'existe. La littérature indique généralement que plus le nombre d'espèces animales utilisées est élevé, meilleure est la valeur prédictive des données pour la situation humaine. Le choix des espèces appropriées d'animaux de laboratoire est effectué au cas par cas, sur la base des données disponibles et d'autres informations pertinentes. En principe, tous les animaux peuvent servir d'animaux de laboratoire, mais seul un nombre limité d'espèces est réellement utilisé en raison de : facteurs pratiques tels que la taille de l'animal, les conditions d'élevage requises, la durée de vie et les considérations financières. De plus, les connaissances accumulées pendant plusieurs années disponibles pour certaines espèces animales traditionnellement utilisées guideront la sélection de ces modèles animaux.

Des nombreux critères font partie pour le choix du modèle animal pour la recherche biomédicale. Les premières considérations comprennent la pertinence (analogie) du modèle par rapport au processus physiologique étudié chez l'homme, les données de base disponibles sur le modèle, le degré de généralisation des données obtenues, la faisabilité et la facilité de manipulation expérimentale, les complications possibles et la morbidité, le cout et la disponibilité de l'animal spécifique, sans omettre les implications éthiques associées à l'utilisation des animaux dans la recherche biomédicale (Arnoczky et al., 2009).

D'ailleurs, La longueur des branches est proportionnelle au nombre d'insertions et de délétions au niveau de site spécifiques [adaptée de (Tao et al., 2007)]. Une phylogénie similaire basée sur le nombre de substitutions de paires de bases a été construite par (Guénet et al., 2015).

Le temps de divergence entre la souris et l'homme est estimé à 70-80 millions d'années (Guénet et al., 2015).

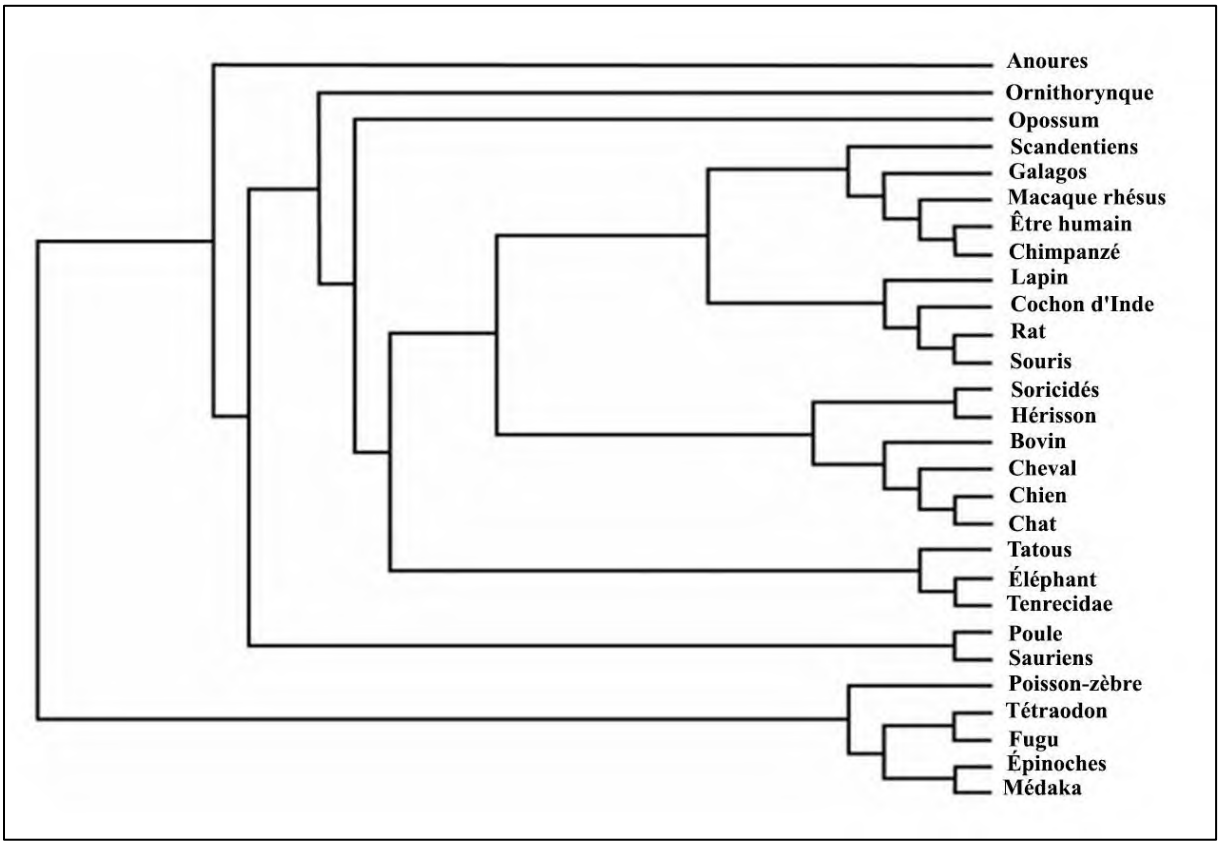


Figure 27: Arbre phylogénétique représentant les relations entre 28 espèces de vertébrés (Guénet et al., 2015)

2. Intérêt des rats comme modèles animaux pour la recherche toxicologique

Le rat est l'espèce préférée, bien que d'autres espèces de rongeurs peuvent être utilisées. Les femelles sont normalement les plus utilisées. En effet, les études de la littérature sur les tests de DL50 conventionnels montrent que, même s'il existe peu de différences de sensibilité entre les sexes, dans les cas où des différences sont observées, les femelles sont généralement légèrement plus sensibles. Cependant, si la connaissance des propriétés toxicologiques et toxicocinétiques de produits chimiques structurellement apparentés indique que les mâles sont susceptibles d'être plus sensibles.

Des animaux adultes sains issus de souches de laboratoire couramment utilisées doivent être utilisés. Les femelles doivent être nullipares et non gravides. Au début de l'essai, chaque animal doit être âgé de 8 à 12 semaines et son poids doit se situer à un intervalle de ± 20 % par rapport au poids moyen des animaux précédemment exposés (OECD-423, 2001).

2.1.Conditions d'hébergement et d'alimentation

La température dans l'animalerie devrait être de 22 ° C (± 3 ° C). Bien que l'humidité relative doit être d'au moins 30% et de préférence ne pas dépasser 70%. Sauf lors du nettoyage de la chambre, une humidité relative entre 50 et 60% est idéale. L'éclairage doit être artificiel, la séquence étant de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Pour l'alimentation, les régimes de laboratoire conventionnels peuvent être utilisés avec un approvisionnement illimité en eau potable. Les animaux peuvent être mis en cage par groupes en fonction de la dose, mais le nombre d'animaux par cage ne doit pas gêner l'observation précise de chaque animal (OECD-423, 2001).

2.2.Préparation des animaux

Les animaux sont choisis au hasard, marqués pour permettre une identification individuelle et gardés dans leurs cages pour les acclimater aux conditions de laboratoire pendant au moins cinq jours avant l'expérience (OECD-423, 2001).

3. Evaluation de la toxicité

L'évaluation de la toxicité s'appuie sur des études qualitatives ou quantitatives adéquates. Il existe plusieurs types d'études qui nous permettent d'évaluer les effets d'un toxique (Les études épidémiologiques, les études expérimentales in vivo, les études in vitro, les études théoriques par modélisation) (Lapointe, 2004). Selon la fréquence et la durée de l'exposition, différentes formes des intoxications sont identifiées.

3.1. Toxicité aiguë et subaiguë

La toxicité aiguë est l'ensemble des effets néfastes qui se manifestent immédiatement ou peu de temps après une exposition à une dose unique sur une période de 14 jours. Le terme toxicité orale aiguë est plus souvent utilisé en liaison avec les déterminations de la létalité et de la DL50. Alors que, la toxicité subaiguë est définie comme l'ensemble des effets toxique qui se produisent après l'administration d'une dose répétée sur une période de 28 jours (OCDE, 2018)

3.2. Observations et examens de la toxicité

Un examen de la morbidité ou de la mortalité est effectué quotidiennement chez tous les animaux, Une recherche de signes spécifiques significatifs sur le plan toxicologique est aussi effectuée une fois par jour. Dans le cas d'une étude par gavage, les animaux sont examinés

immédiatement après l'administration de la dose. Une attention particulière devra être accordée au développement de tumeurs, et le moment d'apparition, la localisation, les dimensions, l'aspect et la progression de chaque tumeur nettement visible ou palpable sont consignés (OCDE, 2018).

Dans le but d'explorer d'autres informations, il peut être utile d'effectuer des prélèvements sanguins afin de procéder à des analyses hématologiques et biochimiques. Des analyses d'urine peuvent être aussi appropriées. Pendant ou avant le sacrifice des animaux, les prélèvements sanguines sont effectués en un point déterminer, par exemple par ponction cardiaque ou au niveau du sinus rétro-orbital, sous anesthésie (OCDE, 2018).

Les organes vitaux des animaux traités sont conservés dans le milieu de fixation le plus approprié afin de réaliser des examens histopathologiques. Les tissus des organes sont analysés pour toutes lésions ou changement dans l'architecture tissulaire (OCDE, 2018).

MATÉRIEL

&

MÉTHODES

I. Enquête ethnopharmacologique des plantes et mixtures des plantes utilisées dans le traitement des maladies rénales dans la région de Fès-Meknès

Avant d'entamer cette étude, nous vous en rappelons l'objectif de cette partie qu'était d'identifier et recenser les plantes et les mixtures de plantes les plus prescrites par les herboristes pour le traitement traditionnel des maladies rénales dans la région de Fès-Meknès.

1. Lieu d'étude

La région de Fès-Meknès, est située au centre-nord du Royaume. Elle est considérée comme un carrefour entre l'est et le nord-est d'une part, et le sud-ouest du Royaume d'autre part, (Figure 28). Elle s'étend sur une superficie de 40075 Km², répartie en 2 préfectures dans la préfecture de Fès et la préfecture de Meknès, et 7 provinces dans la province de Taza, Taounate, Sefrou, Ifrane, Al Hajeb, Moulay Yaakoub et Boulmane. Le relief de la région est constitué essentiellement des collines au pied du Rif dans la zone du Nord, des montagnes du Moyen Atlas, des hautes collines du Missour et des plaines de Saïss.

La région de Fès-Meknès est soumise à 3 types de climats, un climat continental dans la partie nord, très chaud et très sec en été et froid et humide en hiver. Un climat froid et humide en zone montagneuse, très froid et très neigeux en hiver et tempéré en été. Un climat semi-aride dans les hautes collines de Boulemane (Eddouks et al., 2017).

S'étendant sur une partie du Moyen Atlas, la région de Fès-Meknès se trouve au cœur du réseau hydrographique marocain. Avec les deux grands bassins (Sebou et Moulouya). La région comprend également un des plus vastes ensembles forestiers de tout le pays, étendu sur la plus grande partie du versant nord de l'Atlas (Eddouks et al., 2017). Ainsi, par sa position géographique et ses conditions climatiques, cette région dispose d'une flore riche et variée constituée de plusieurs espèces utilisées en médecine traditionnelle (Eddouks et al., 2002).

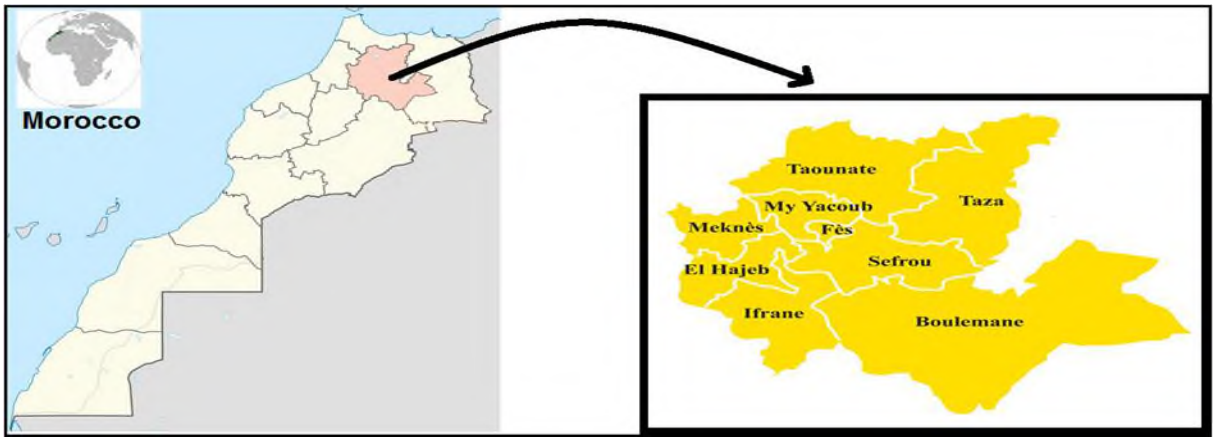


Figure 28: Carte du Maroc avec localisation de la zone d'étude

(Https://www.wikipedia.org/)

2. Type et période de l'étude

Il s'agissait d'une étude prospective de cohorte transversale, qui s'appuie sur une enquête menée chez les herboristes de la région Fès Meknès entre avril 2016 et juin 2016.

3. Population étudiée

La population étudiée est constituée de 289 herboristes de la région de Fès Meknès, la répartition du nombre des herboristes en fonction des régions est illustrée dans le Tableau 5.

Tableau 5: Répartition du nombre des herboristes en fonction des régions

Région	Effectif	Pourcentage %
Fès	82	28.3
Meknès	80	27.6
Sefrou	31	10.7
Boulemane	26	9
Missour	14	4.8
Outat El Haj	10	3.4
Taza	30	10.3
Taounate	16	5.5
Total	289	100%

3.1.Critères d'inclusion

Nous avons inclus dans cette étude les herboristes traditionnels ayant reçu une formation diplômante ou non.

3.2.Critères d'exclusion

Nous avons exclu dans cette étude, les guérisseurs traditionnels, les ferraga et les herboristes ayant refusé de participer à notre étude.

4. Fiche de recueil de données

Un questionnaire a été utilisé, pour faciliter le recueil des informations sur les plantes prescrites par les herboristes, ainsi que leur mode d'utilisation.

Le questionnaire comprend deux parties (Annexe 1) :

- Une première partie concerne les caractéristiques sociodémographiques et professionnelles des herboristes (âge, sexe, scolarité, ancienneté…)
- La deuxième partie relevait des informations sur les plantes prescrites (Identification des plantes, modalités d'administration, maladies traitées par les plantes), ainsi que les risques de leurs toxicités.

5. Indices ethnobotaniques

5.1.Valeur d'usage (UV)

Cet indice ethnobotanique est largement utilisé et serait plus objectif pour évaluer l'importance d'une plante dans un communité. Il a été calculé en utilisant la formule suivante (Phillips et al., 1994):

$$UV = \frac{\sum Ui}{N}$$

Où :

- U*i* est le nombre d'usages mentionnés par informateur « i ».

- N est le nombre total des informateurs (herboristes) interrogés.

5.2.Valeur d'usage de la famille botanique (FUV)

L'importance des familles de plantes médicinales a été évaluée à l'aide des valeurs d'utilisation familiale (FUV), calculées à l'aide de la formule suivante :

$$FUV = \frac{\sum UV}{n}$$

Où :

- UV = valeur d'usage d'une plante appartenant à la famille
- n = nombre des plantes de la famille.

5.3.Niveau de fidélité (FL)

Le niveau de fidélité correspond au pourcentage d'herboristes qui ont mentionné les utilisations d'une plante pour traiter une maladie particulière dans une zone d'étude. C'est un indice qui est largement utilisé pour les usages médicinaux des plantes. Le FL est calculé à l'aide de la formule suivante (Güzel et al., 2015; Bahmani et al., 2014):

$$FL\ (\%) = \frac{Np}{N} \times 100$$

Où :

- Np : le nombre d'informateurs qui mentionnent une plante pour un certain usage « p ».
- N: le nombre d'informateurs qui mentionnent la plante pour n'importe quel usage.

5.4.Priorité de classement (ROP)

Le ROP est un facteur de correction, utilisé pour le classement approprié des espèces végétales avec différentes valeurs de FL et de RP. Le ROP est dérivé de FL; en multipliant les valeurs RP et FL. (Nowbandegani et al., 2015; Bahmani et al., 2014).

$$ROP = FL \times RP$$

Où :

- ROP = priorité de classement.
- FL = niveau de fidélité.
- RP = popularité relative.

Le RP est le rapport entre le nombre de maladies traitées par une espèce de plante donnée et le nombre total des herboristes pour n'importe quelle maladie (Ali-Shtayeh et al., 2000; Friedman et al., 1986).

5.5.Le Facteur Consensuel de l'Informateur (FCI)

Le FCI est utilisé pour voir s'il existe un accord sur l'utilisation des plantes pour une affection donnée. C'est un indice qui est souvent utilisé pour les usages médicinaux des plantes. Le FCI a été calculée à l'aide de la formule suivante (Bağcı, 2000):

$$FCI = \frac{(Nur - Nt)}{(Nur - 1)}$$

Où :

- Nur : le nombre de fois qu'une catégorie particulière « p » d'affection a été mentionnée.
- Nt : le nombre de plante(s) mentionnée(s) pour le traitement de cette affection particulière « p ».

6. Analyses statistiques

Les variables ont été décrites à l'aide de statistiques descriptives. Pour les variables qualitatives, elles ont été décrites en pourcentage et les variables quantitatives en termes de moyenne, de valeurs extrêmes et d'écart type. La saisie des données et les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS21.

II. Screening phytochimique des mixtures

1. Matériel végétal

Dans cette deuxième partie, nous avons choisi de travailler sur deux mixtures de plantes fréquemment citées par les herboristes pour le traitement des maladies rénales :

Première mixture (M1) : elle s'agit d'une mixture utilisée pour le traitement des œdèmes et coliques néphrétiques composée de cinq plantes médicinales : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Petroselinum crispum*., *Chamaemelum nobile* (L.) All., *Rosmarinus officinalis* L., et *Lavandula officinalis* L.

Toutes les plantes ont été achetées puis identifiées et leurs spécimens ont été déposés au laboratoire Herbier de biotechnologie et de préservation des ressources naturelles (BPNR), Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès, Maroc.



Figure 29: Mixture de plantes (M1)

Deuxième mixture (M2) : elle s'agit d'une mixture emballée et étiquetée sans aucune information sur les ingrédients végétales.

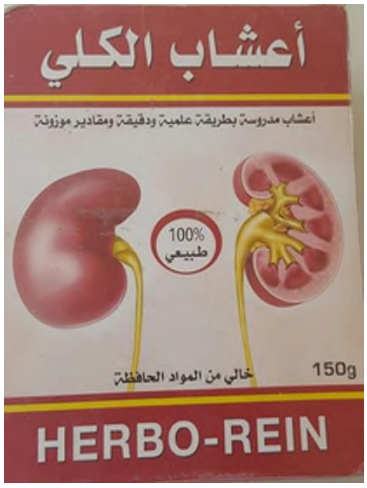


Figure 30: Mixture des plantes (M2)

Toutes les plantes composantes de M1 ont été achetées auprès des herboristes dans la région de Fès-Meknès. Ainsi que, la mixture M2 a été achetée emballée et étiquetée.

2. Extraction de la mixture

Pour faciliter l'extraction, les deux mixtures M1 et M2 ont été broyées.

2.1.Extraction par infusion

Dans 150 ml d'eau bouillante, 20 g de la poudre de la mixture a été ajoutée. Le mélange a été laissé pendant 20 min puis filtré par papier Wathman. Le résidu résultant a été séché dans un four à 40 °C.

Après récupération de l'extrait final, le calcul de rendement a été déterminé par la formule suivante :

Rendement en % = $(\frac{m\ extrait}{ms}$ x 100) ± $(\frac{\Delta m\ extrait}{ms}$ x 100).

Avec :

- m $_{extrait}$ = masse de l'extrait récupéré en (g)
- m s = masse végétale sèche en (g)

2.2.Extraction solide-liquide (système de soxhlet)

Vingt grammes de poudre végétale ont été mise dans la cartouche de soxhlet et le ballon a été rempli de 170 ml de solvant organique. L'extraction au soxhlet a été réalisée par l'utilisation de différents solvants de polarité croissante. L'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le méthanol.

Huit extraits en fonction du solvant utilisé ont été obtenus : extrait hexanique, chloroformique, dichlorométhanique, d'acétate d'éthyle, butanolique, méthanolique, extrait éthanolique et aqueux.

Chaque extrait a été concentré et séché à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite.

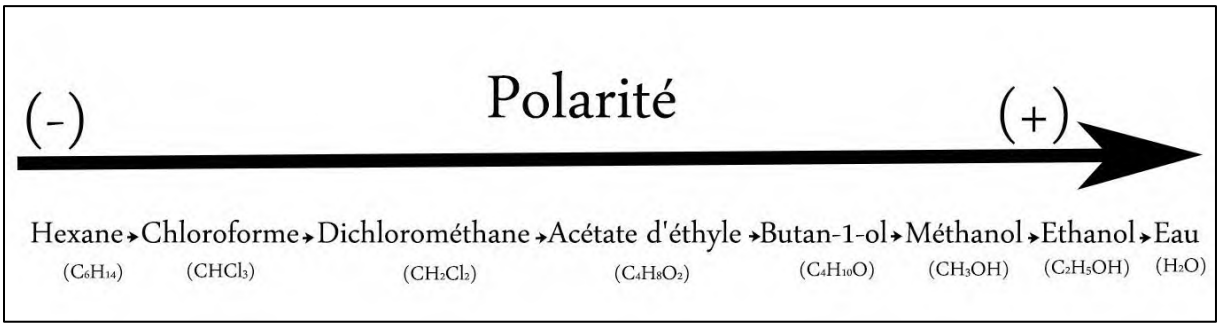


Figure 31: Différents solvants utilisés dans le système soxhlet

3. Criblage phytochimique de l'extrait aqueux des mixtures

Les tests phytochimiques sont des tests qualificatifs qui permettent de caractériser les différents groupes chimiques. Les analyses phytochimiques de nos mixtures de plantes ont été réalisées par les techniques décrites par Paris et Dialllo. Les familles chimiques étudiées sont : les tanins (galliques et catéchiques), les coumarines, les leucoanthocyanes, les flavonoïdes, les mucilages, les stérols, les terpènes, les quinones et les glycosides cardiaques.

3.1.Tanins

Dans un tube à essai contenant 1 ml de l'extrait, on ajoute 1 ml d'une solution aqueuse diluée de $FeCl_3$ à 1%. En présence de tanins, une coloration verdâtre ou bleu noirâtre ou précipité se développe (Judith, 2005).

3.1.1. Tanins catéchiques

On ajoute à 5 ml d'infusé 1 ml d'alcool chlorhydrique (5 ml d'alcool 95° C, 5 ml d'eau distillée, 5 ml d'HCl concentré) concentré, le tout porté à ébullition pendant 15 minutes. En présence de tanins catéchiques, il y aura formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique (Judith, 2005).

3.1.2. Tanins galliques

On ajoute à 30 ml d'infusé 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40 %, 15 ml d'acide chlorhydrique concentré). Après chauffage au bain-marie à 90°C pendant 15 minutes, on filtre le précipité et on sature le filtrat de 5 g d'acétate de sodium pulvérisé, puis on ajouter 1 ml goutte à goutte d'une solution de $FeCl_3$ à 1 %. L'obtention du précipité montre la présence de tanins galliques. Le tout est filtré encore une fois et 10 ml de filtrat est saturé d'acétate de sodium, puis on ajoute quelques gouttes de $FeCl_3$ à 1 %. Le développement d'une teinte bleue noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny (Judith, 2005).

3.2.Flavonoïdes

Dans un tube à essai, on introduit 5 ml de l'infusé, et on ajoute 5 ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95 %, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes) ; puis on ajoute quelques copeaux de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique. L'apparition d'une coloration rose orangée (flavones) ou rose violacée (flavonones) ou rouge (flavonols, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavoniques. La réaction est négative avec les chalcones, les dihydrochalcones, les aurones, les catéchines et les isoflavones (Judith, 2005)

3.2.1. Leucoanthocyanes

On effectue la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium et on chauffe pendant 15 mn au bain-marie. En présence de leucoanthocyanes, une coloration rouge cerise ou violacée se développe.

3.2.2. Catéchols

On effectue la réaction à la cyanidine sans ajouter les copeaux de magnésium. Après chauffage pendant 15 mn au bain-marie donnent une teinte brune rouge.

3.3.Saponosides

3.3.1. Test quantitatif

Par agitation, une mousse persistante, dont la hauteur est mesurable, apparait dans les extraits à saponines. La teneur en saponines est quantifiée par le calcul de l'indice de mousse : Deux grammes de matériel végétal sec broyé sont utilisés pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau pendant 30 min. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. À partir de cette solution mère, on prépare 10 tubes (1,3 cm de diamètre interne) avec 1, 2, … 10 ml, le volume final étant réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chacun des tubes est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 min en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm. Si elle est proche de 1 cm dans le xe tube, l'indice de mousse est calculé par la formule suivante :

I = hauteur de mousse (en cm) dans le xe tube x 5 / 0,0x.

La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100 (Dohou et al., 2003)

3.4.Stérols et terpènes

L'extrait à tester est obtenu à partir de 1 g de poudre et 20 ml d'éther de pétrole, laissés pendant 24 heures en macération, qu'on filtre et complète à 20 ml. On évapore jusqu'à sec dans une capsule de 10 ml d'extrait puis on dissout le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique et aussi dans 1 ml de chloroforme. Ensuite, on les partage dans deux tubes à essai, l'un servant de témoin et on met 1 à 2 ml de H_2SO_4 concentré dans le fond du second tube à l'aide d'une pipette. A la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette révèle la présence de stérols et triterpènes (Nene bi et al., 2008).

3.5.Coumarines

Test de détection : 2 g de matériel végétal en poudre sont mélangés à 10 ml de $CHCl_3$. Après un chauffage de quelques minutes et une filtration, les extraits chloroformiques sont soumis à une chromatographie sur couche mince, le solvant étant le mélange toluène / AcEt (93:10). La visualisation du chromatogramme, après migration, se fait à 365 nm en absence et en présence de NH_3.

Test de confirmation : 1 g de poudre végétale est placé dans un tube, en présence de quelques gouttes d'eau. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV (Dohou et al., 2003).

3.6.Quinones libres

Un gramme de matériel végétal sec et broyé est placé dans un tube avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et repos de 24 h, les extraits sont filtrés et concentrés au rotavapor. La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet.

3.6.1. Anthraquinones libres

À l'extrait chloroformique de chacun des organes, on ajoute du KOH aqueux 10 % (v/v). Après agitation, la présence des anthraquinones est confirmée par un virage de la phase aqueuse au rouge.

3.6.2. Anthracéniques combinés

- O-hétérosides : on prépare un hydrolysat à partir du résidu de la drogue épuisée par le chloroforme auquel il faut ajouter 10 ml d'eau, 1 ml d'acide chlorhydrique concentré puis on maintient le tube à essai au bain marie bouillant pendant 15 minutes, ensuite 5 ml de l'hydrolysat sont agités avec 5 ml de chloroforme. A la phase organique, on ajoute 1 ml de NH_4OH dilué. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines O-hétérosides.

- C-hétérosides : La solution à analyser est la phase aqueuse obtenue avec la solution à analyser des O-hétérosides. A cette solution, on ajoute 10 ml d'eau et 1 ml de $FeCl_3$. On chauffe l'ensemble au bain-marie pendant 30 mn, et on refroidit sous un courant d'eau. Ensuite, le tout est agité avec 5 ml de CHCl3, et la phase chloroformique est soutirée, puis 1 ml de NH_4OH dilué est ajouté. L'apparition d'une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de C-hétérosides.

3.7.Alcaloïdes

A 20 g de poudre est additionné de l'acide sulfurique dilué au 1/20. On laisse l'ensemble est en macération pendant 24 heures puis on le filtre. Dans un tube à essai, on introduit 1 ml de filtrat

et on ajoute 5 gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes de réactif de Dragendorff dans le second tube. S'il y a apparition d'un précipité, la présence d'alcaloïdes est confirmée par leur extraction (Dohou et al., 2003).

Pour la détermination du pourcentage des alcaloïdes, on met en agitation 3 g de poudre, 25 ml d'acide sulfurique à 10 % et 5 ml d'eau distillée, puis on complète à 50 ml avec de l'eau distillée. Après filtration, on ajoute jusqu' à pH 8-9 puis on fait une extraction avec 50 ml de chloroforme. Le filtrat séché sur sulfate de sodium anhydre est évaporé au bain-marie dans une capsule préalablement pesée. La capsule est encore pesée avec le résidu (Dohou et al., 2003)

3.8.Glycosides cardiaques

On ajoute deux ml de chloroforme à 1 ml de l'extrait, l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre après l'ajout de H_2SO_4 indique la présence des glycosides cardiaques (Yam et al., 2009)

3.9.Mucilages

Sont détectés par la formation d'un précipité floconneux après l'ajout de 5 ml d'alcool absolu à 1 ml de décocté aqueux à 10 (Diallo, 2005).

4. Dosage par HPLC-DAD

Pour identifier les composées phénoliques de l'extrait aqueux de mixture, on effectue un dosage par la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) en phase inverse, en utilisant un système HPLC shimadzu avec une colonne analytique (C18) SGE 250x4.6mm SS Exsil ODS 5 µm. La séparation réalisée en mode gradient, en utilisant deux solvants ; A (Eau / acide Acétique) (97.5: 2.5, v / v) et B (Méthanol / Acétonitrile) (50 :50, v/v) selon le gradient d'élution illustré dans le Tableau 6. Débit est de 1 $ml.min^{-1}$ et le volume d'injection est de 20 µl. La détection sera réalisée entre 200 et 800 nm.

Pour identifier les molécules, nous nous sommes basés sur le temps de rétention et le spectre d'absorption UV, et pour comparer la même molécule dans deux extraits différents et avec les standards (voir annexes), on accepte une variation de 0,5 minute entre les pics.

Tableau 6: Gradient d'élution

Solution A (%)	Solution B (%)	Volume injectée (µl)	Flux (ml/min)	Temps (min)
95	5	20	1	0,01
70	30	20	1	25
65	35	20	1	50
30	70	20	1	65
0	100	20	1	70
95	5	20	1	75

IV. Evaluation de la toxicité aiguë et subaiguë

Etude de la toxicité de deux mixtures, a été réalisée sur 60 rats Wistar pendant 15 jours pour l'évaluation de la toxicité aiguë.

Les rats ont été divisés en 6 groupes, dont 10 rats dans chaque groupe (5 mâles et 5 femelles) pesant entre 60 et 120 g. L'administration de l'extrait aqueux a été réalisée par voie orale pour tous les groupes.

- Le groupe 1 a servi de groupe témoin recevant une solution saline normale.
- Pour les groupes 2, 3 et 4, chaque groupe a reçu respectivement une dose orale unique à 300 mg/kg, 500 mg/kg et 2 000 mg/kg de poids corporel.
- Pour le cinquième groupe a reçu une dose orale unique de 10 ml / kg (dose équivalente à l'usage traditionnel).
- Pour le sixième groupe a reçu une dose orale unique de l'extrait aqueux de mixture de 6 000 mg / kg de poids corporel [la dose choisie théoriquement en multipliant dose élevée (2000 mg / kg) trois fois].

Pour l'évaluation de la toxicité subaiguë de deux mixtures, 40 rats Wistar ont été utilisés pendant 28 jours.

Les rats ont été divisés en deux groupes pour chaque mixture, dont 10 rats dans chaque groupe (5 mâles et 5 femelles) pesant entre 60 et 120 g. L'administration subaiguë de l'extrait aqueux a été réalisée par voie orale.

- Le groupe 1 a servi de groupe témoin recevant une solution saline normale.
- Le groupe 2 a reçu quotidiennement une dose orale de 500 mg/kg de poids corporel pendant 28 jours.

1. Poids corporel et signes de toxicité

Le poids corporel a été suivi quotidiennement pendant 15 jours suite à l'administration de l'extrait aqueux des mixtures pour l'évaluation de la toxicité aiguë et pendant 28 jours pour la toxicité subaiguë.

La mortalité, la diarrhée, la constipation, l'agitation, les œdèmes, les convulsions, la somnolence, la léthargie, l'engourdissement et les tumeurs ont été les différents signes de toxicité les plus recherchés durant notre étude.

2. Calcul des poids relatifs des organes

Pour évaluer l'effet de l'extrait aqueux des mixtures sur les poids relatifs du foie, des reins et de la rate des groupes des rats traités, la formule suivante a été utilisée :

ROW= poids organe traité (mg)/ poids organes témoins (mg) x 1000

Avec :

ROW : Poids relatifs des organes

3. Analyses des paramètres biochimiques

Après le sacrifice des rats traités avec les différentes doses étudiées dans notre recherche, le sang total a été obtenu par la ponctuation cardiaque puis centrifugé à 2500 tours par minute pendant 5 min. Le sérum est recueilli dans des tubes Eppendroff et conservé à -20 °C.

Le Tableau 7 résume les différents paramètres biochimiques sériques selon le profil hépatique, rénal, lipidique et les électrolytes.

Tableau 7: Paramètres biochimiques sériques selon le profil hépatique, le profil rénal, le profil lipidique et les électrolytes

Paramètres biochimiques	
Profil hépatique	ALAT : Alanine aminotransférase ASAT : aspartate aminotransférases Protéines totales Bilirubines (totales et directes) ALP : Phosphatase alcaline GGT : Gamma glutamyl transpeptidase
Profil rénal	Créatinine Urée Acide urique
Profil lipidique	Cholestérol (totale et HDL) Triglycérides
Electrolytes	Magnésium Phosphore Ferritine Fer sérique

Tous les paramètres sont dosés par automate Architect 4000 au Laboratoire Central des Analyses Médicales du Centre Hospitalier Universitaire Hassan II (CHU- Hassan II) de Fès.

4. Analyses hématologiques

Le prélèvement du sang a été effectué chez les rats par ponctuation cardiaque, ainsi, le sang a été recueilli dans des tubes EDTA pour la numération de la formule sanguine (NFS).

Les paramètres hématologiques mesurés sont les suivants : globules rouges, globules blancs, concentration en hémoglobine (Hb), hématocrite, volume corpusculaire moyen (MCV), hémoglobine corpusculaire moyenne (MCH), concentration en MCH (MCHC), plaquettes, neutrophiles, lymphocytes, éosinophiles et les monocytes.

5. Evaluation histopathologique

Les animaux sont anesthésiés par voie intrapéritonéale avec du pentobarbital de sodium à la dose de 30 mg / kg, avant de procéder à leur décapitation à l'aide de guillotines qui doivent être

aiguisées et ajustées pour assurer des performances optimales. Les organes ont été excisés et pesés. Des organes vitaux tels que les reins et le foie ont été conservés dans le formol neutre à 10%.

Les autres étapes y compris les inclusions, les coupes et la coloration ont été effectué au niveau du Laboratoire d'Anatomie Pathologique au Laboratoire Central des Analyses Médicales du CHU-Hassan II de Fès.

Les prélèvements passent par une série d'étapes avant qu'ils ne soient lus et interprétés par le pathologiste responsable. La technique est réalisée en cinq étapes qui sont principalement :

- La fixation.
- L'inclusion.
- La microtomie.
- La coloration.
- Le montage.

5.1.Fixation

C'est une étape essentielle dans la préparation tissulaire qui permet de s'opposer à l'autolyse tissulaire et à la putréfaction, de garantir la conservation des structures et le durcissement des pièces, afin de garder le prélèvement dans un état aussi proche que possible de l'état vivant. Toute fixation défectueuse rend l'étude anatomopathologique difficile voire impossible. Le choix du fixateur dépend de la nature du tissu à couper, le laboratoire d'anatomie pathologique utilise le formol à 10% dont la durée d'action et le volume sont proportionnels à la taille de la pièce (Généralement le volume du fixateur représente environ 10 fois le volume de la pièce) (Figure 32)

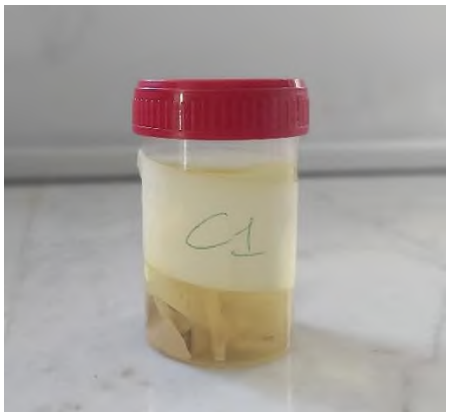


Figure 32: Fixation de la pièce (M. CHEBAIBI, CHU-Fès)

Un examen macroscopique est d'abord effectué, au cours duquel un descriptif détaillé de la pièce est établi (taille mesurée dans les 3 dimensions, couleur, forme, aspect de la coupe…etc.).

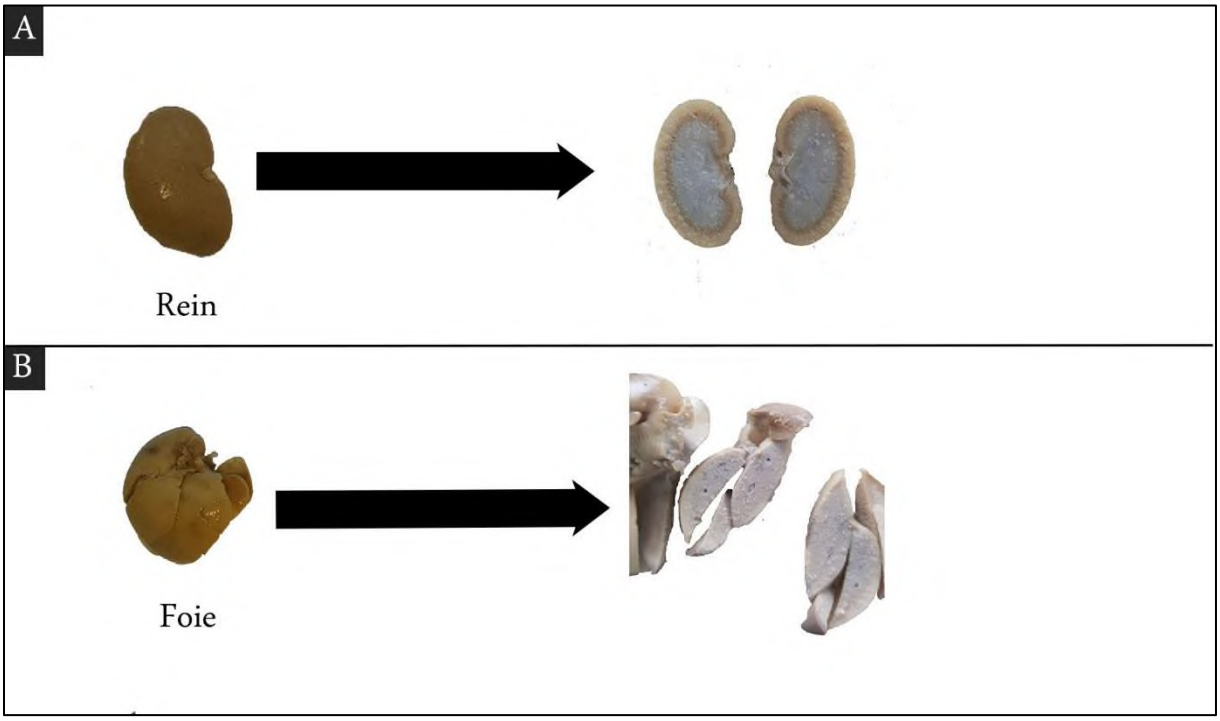


Figure 33: Examen macroscopique : (A) le rein, (B) le foie (M. CHEBAIBI, CHU-Fès)

Après cet examen macroscopique, le pathologiste incube les fragments dans des cassettes identifiées à l'aide d'un crayon pour subir par la suite une inclusion dans la paraffine (Figure 34)

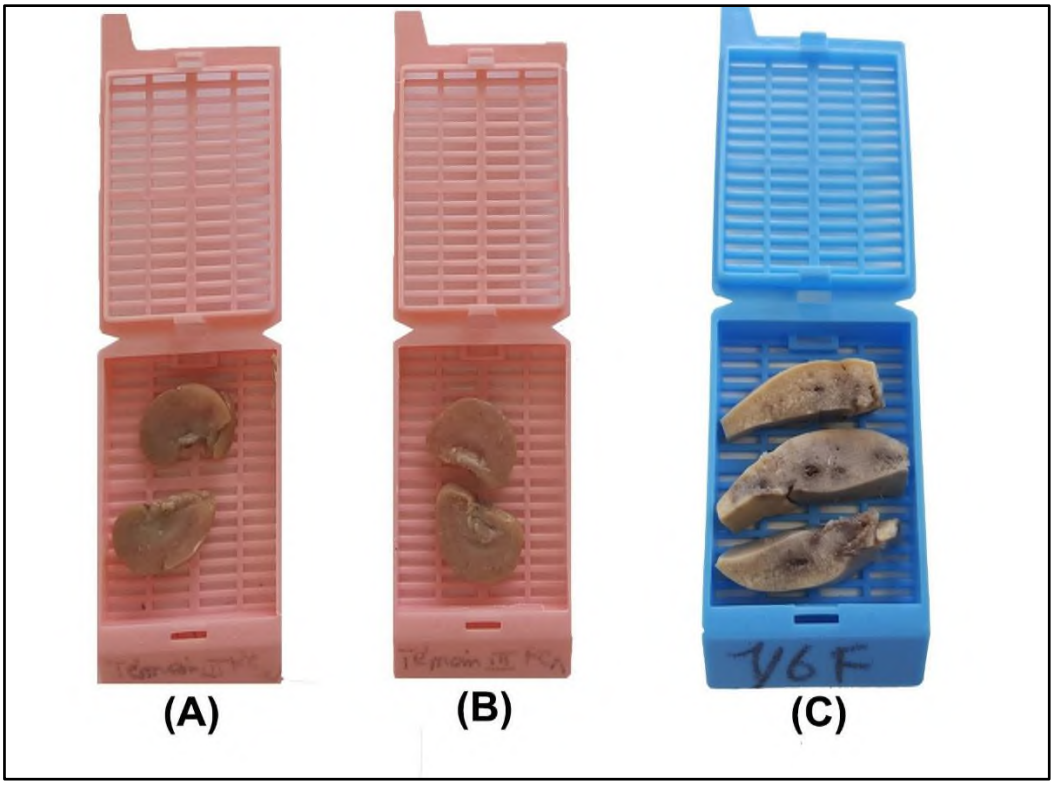


Figure 34: Inclusion des fragments dans les cassettes (M. CHEBAIBI, CHU-Fès)

5.2.Inclusion

Elle a pour but d'enfermer le prélèvement dans une substance qui le pénètre et l'infiltre. Les tissus acquièrent ainsi une consistance permettant d'obtenir des coupes minces au microtome. La substance d'inclusion, généralement la paraffine est une substance liquide à chaud, solide à température ambiante et insoluble dans l'eau et dans l'alcool. Comme cette substance est hydrophobe, la pièce anatomique doit être entièrement déshydratée avant son inclusion dans la paraffine. Vu qu'elle est aussi non soluble dans l'alcool utilisé pour la déshydratation ; une double substitution doit être réalisée. L'eau est remplacée par l'alcool (déshydratation) et l'alcool par le toluène (substitution). Pour réaliser cette étape, un automate d'inclusion est utilisé (Figure 35). Il peut se charger de toutes les phases conduisant à la mise à disposition d'un bloc de paraffine prêt à être microtomisé.



Figure 35: Automate d'inclusion (M. CHEBAIBI, CHU-Fès)

L'étape de circulation consiste à faire séjourner les pièces dans une série de liquides intermédiaires.

- Fixation dans deux bains de Formol 10% (30 min × 2).
- Déshydratation par l'alcool : consiste à débarrasser le tissu de l'eau qu'il contient, tenant compte que l'agent déshydratant doit être miscible en même temps à l'eau et à la paraffine. La déshydratation se fait dans cinq bains d'Alcool de degré croissant 75%, 80%, 90%, 95%, et absolu (1h × 3,1h30 et 2h).
- Eclaircissement par le toluène : cette étape est destinée à remplacer l'alcool par un solvant de la paraffine et à chasser l'alcool par trois bains successifs de toluène. En remplaçant l'agent déshydratant, le toluène rend le tissu transparent d'où le nom d'éclaircissement. Cette opération se déroule dans trois bains de Toluène (1h, 1h30 et 2h).
- Enrobage dans la paraffine : c'est l'étape terminale de la circulation, réalisée par passage du tissu dans la paraffine liquide. Deux bains de Paraffine (2h et 3h) sont utilisés. L'inclusion ne se fera de façon satisfaisante que si la pièce à couper ne contient

ni eau ni solvant intermédiaire (alcool) (Figure 36). Le bloc devient plus facile à manipuler que le tissu seul et il peut s'attacher à la pince porte objet du microtome sans briser la pièce.

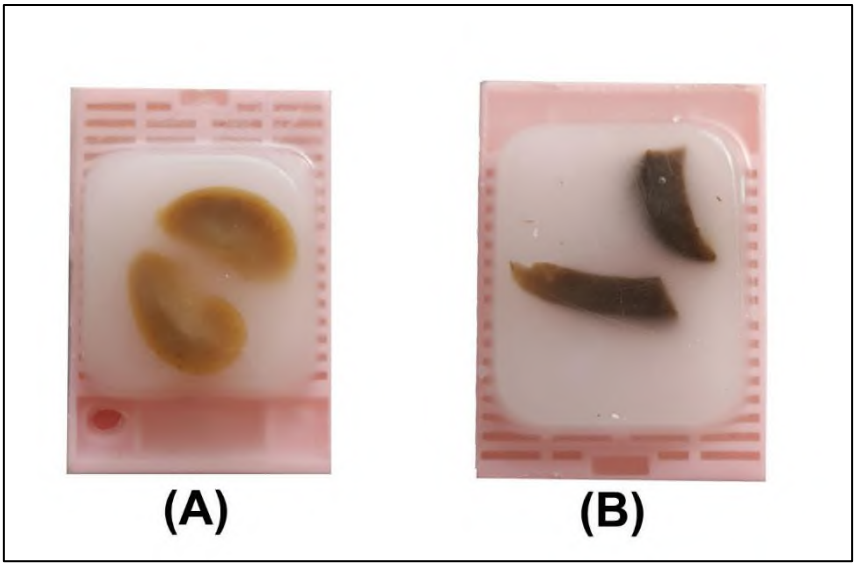


Figure 36: Enrobage dans la paraffine (M. CHEBAIBI, CHU-Fès)

5.3.Microtomie

Après montage du bloc dans le porte-bloc du microtome destiné à produire de fines tranches (4µm), la réalisation des rubans est effectuée. Ces coupes sont immergées dans des bains d'alcool, puis étalées en les déplissant sur la lame par flottation à la surface d'un bain chaud (Figure 37).



Figure 37: Microtomie des coupes histologiques

(Http://apsc.ch/?p=14)

5.4.Coloration

La coloration histologique permet de différencier finement tous les éléments d'un tissu. Elle consiste à accentuer les contrastes pour mieux reconnaitre les différents éléments de la préparation. La coloration utilisée est de type HES (hématoxyline-éosine-safran). Elle a pour but de permettre la mise en évidence des noyaux et du cytoplasme des cellules ainsi que des fibres de collagène. L'hématoxyline colore le noyau en violet, l'éosine colore le cytoplasme en rose et le safran se charge de colorer les fibres de collagène en jaune. Les lames doivent être préparées afin de pouvoir recevoir les colorants.

La première étape de déparaffinage consiste à enlever la paraffine de la coupe tissulaire pour que les colorants puissent pénétrer le tissu et le colorer. Pour ce faire, les lames contenant les coupes tissulaires sont passées à l'étuve à 58-60°Cpendant toute une nuit, elles sont traitées par deux bains successifs de toluène pour une durée de 5min chacun. Ensuite, le tissu est mis dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70%, 80% et 100%) durant 5min pour chaque bain afin de retirer le toluène du tissu. Puis, un lavage pendant 1min à l'eau courante est réalisé. L'étape de déparaffinage est alors terminée et nous passons à l'application des différentes colorations. Les lames sont alors immergées dans un bain d'hématoxyline pendant 5min puis lavées à l'eau courante pendant 1min avant un passage dans des bains d'alcool chlorhydrique et d'alcool ammoniacal.

Après un rinçage à l'eau courante, les lames sont mises dans un bain d'éosine à 2% pendant 5min. Ensuite, un passage rapide dans une succession de bains d'alcool à concentrations croissantes est réalisé. Les lames passent alors dans un bain de safran pendant 10 min avant de passer dans un bain d'éthanol-méthanol pendant 1min puis dans un bain de toluène. Une fois la coloration terminée et à l'aide d'un milieu de montage, une lamelle de verre est fixée sur la coupe tissulaire. Le montage permet une protection mécanique des coupes, ainsi qu'une protection chimique des colorants.



Figure 38: Automate de coloration (M. CHEBAIBI, CHU-Fès)

5.5.Montage

Cette opération consiste, une fois la coloration terminée, à fixer à l'aide d'un milieu de montage, une lamelle de verre sur la coupe tissulaire. Le montage permet une protection mécanique des coupes, ainsi qu'une protection chimique des colorants (Figure 39)

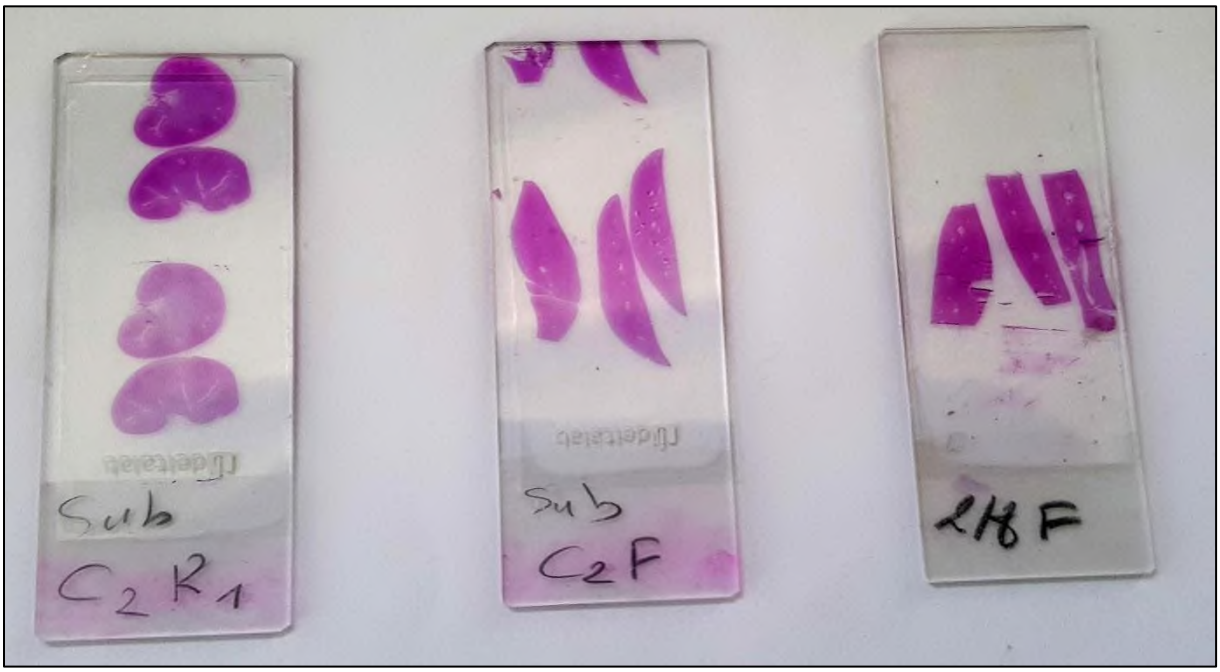


Figure 39: Lames montées et colorées (M. CHEBAIBI, CHU-Fès)

La lecture des lames colorées est effectuée à l'aide d'un microscope optique. Cet appareil permet d'obtenir une image agrandie (10 à 1000 fois) par une combinaison optique de la coupe éclairée par une lumière qui la traverse.

RESULTATS

ET

DISCUSSION

Chapitre I : Enquête ethnopharmacologique sur les plantes et les mixtures utilisées dans le traitement traditionnel des maladies rénales

I. Caractéristiques sociodémographiques et professionnelles des herboristes

1. Caractéristiques sociodémographiques des herboristes

L'herboristerie dans la région de Fès-Meknès a été pratiquée principalement par les hommes, ainsi sur les 289 herboristes interrogés, 95,50% étaient de sexe masculin avec un âge qui variait entre 20 et 80 ans et une moyenne d'âge de 47± 0,44 ans (Tableau 8).

Tableau 8: Répartition des herboristes selon les caractéristiques sociodémographiques des herboristes

Caractéristiques sociodémographiques		Effectif	Pourcentage %
Nombre des herboristes		N = 289	
Sexe	Masculin	276	95,50
	Féminin	13	4,50
	Sexe ratio (M/F)	21,23	
Age	< 20 ans	0	0
	20 - 30 ans	4	1,39
	31 - 60 ans	258	89,27
	61 - 80 ans	26	8,99
	> 80 ans	1	0,35
	Age moyen	47,01 ± 0,44	
Niveau d'étude	Illettré	57	19,72
	Primaire	95	32,87
	Secondaire	102	35,29
	Universitaire	35	12,11
Localité	Urbain	226	78,20
	Rurale	63	21,79

Ce résultat est en accord avec les études où les hommes dominent la pratique de la médecine traditionnelle marocaine (Haddad et al., 2003) et algérienne (Boudjelal et al., 2013). En ce qui concerne le niveau d'éducation des herboristes, 35,29% d'entre eux avaient un niveau secondaire, 32,87% primaire, 12,11% un niveau universitaire et 19,72% étaient des illettrés. Ce résultat montre que la majorité des herboristes ont un niveau secondaire ou primaire, contrairement à de

nombreuses études dans les régions du Maroc où la majorité des herboristes étaient des illettrés, avec des pourcentages respectifs de 60,27%, 40% et 41% (Benlamdini et al., 2014; Benkhnigue et al., 2010; El Rhaffari et al., 2002).

2. Caractéristiques professionnelles des herboristes

La principale source des connaissances des herboristes de la région de Fès-Meknès était l'expérience ancestrale de leurs pères ou grands-pères (57,09 %). Nous remarquons que certains herboristes se référaient à l'expérience ancestrale et média comme source de connaissances (25,95%), d'autres utilisaient les livres uniquement (12,80 %), alors que d'autres herboristes s'appuyaient uniquement sur les médias et internet (3,11%) (Tableau 9).

La majorité des herboristes exerçaient leur fonction pendant 7 et 12 ans (50,51%) et 44,98% d'entre eux exerçaient pendant plus de 13 ans. Ce qui explique leurs grandes expériences (Tableau 9).

Tableau 9: Répartition des herboristes selon les caractéristiques professionnelles des herboristes

Paramètres professionnels		Effectif	Pourcentage %
Source de connaissance	Expérience ancestrale	165	57,09
	Expérience ancestrale et internet	3	1,03
	Expérience ancestrale et média	75	25,95
	Média et internet	9	3,11
	Livres	37	12,80
Années d'expériences	< 6 années	13	4,49
	7 - 12 années	146	50,51
	13 - 20 années	90	31,14
	> 20 années	40	13,84
Connaissance des plantes toxiques	Oui	136	47,05
	Non	153	52,94

Ce résultat est concorde avec d'autres études ethnopharmacologiques dans lesquelles il a été signalé que l'apprentissage des techniques commerciales chez les herboristes marocains se sont transmises de génération en génération (Barkaoui et al., 2017; Haddad et al., 2003). Nous remarquons que certains herboristes utilisent l'expérience ancestrale et internet comme source de connaissances, d'autres utilisent les médias en plus de l'expérience ancestrale, alors que d'autres

herboristes s'appuient uniquement sur les médias, tandis que d'autres utilisent les livres. Ceci explique le rôle des programmes de radio et de télévision et d'Internet dans la diffusion des connaissances sur les plantes médicinales. L'utilisation de livres par les herboristes est en accord avec une étude menée dans la région de Daraa-Tafilalet dans le sud-est du Maroc, où la principale source d'acquisition de connaissances des herboristes est la littérature (Eddouks et al., 2017). Notre étude est la première à citer l'intégration des nouveaux médias et d'Internet comme source de connaissance pour ces derniers.

Selon notre enquête, la majorité des herboristes exerçaient leur fonction pendant 7 et 12 ans (50,51%) et 44,98% d'entre eux exerçaient pendant plus de 13 ans. Ce qui explique leurs grandes expériences. Ce résultat concorde avec les études réalisées au Maroc (Barkaoui et al., 2017; Eddouks et al., 2017), où les informateurs les plus anciens, y compris les herboristes jouent un rôle particulier dans une enquête d'ethnobotanique en raison de leurs expériences enrichissantes.

II. Données sur les plantes les plus utilisées dans le traitement des maladies rénales

1. Parties des plantes utilisées, mode de préparation et mode d'administration

Les résultats de notre enquête ont montré que la tige et les feuilles sont les parties les plus utilisées, suivies des graines puis des feuilles uniquement. De plus, les principales méthodes de préparation étaient l'infusion, la décoction et la macération respectivement. Notre enquête a montré que le mode d'administration le plus courant était la voie orale (Figures 40, 41 et 42).

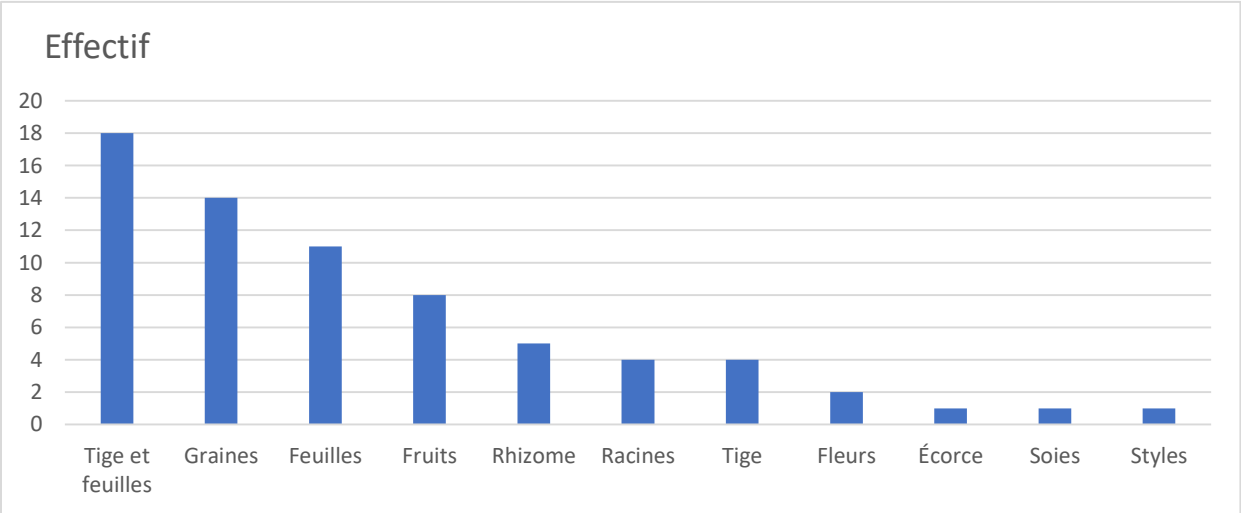


Figure 40: Fréquence de la partie de la plante la plus utilisée par les herboristes dans la région de Fès Meknès pour le traitement des maladies rénales

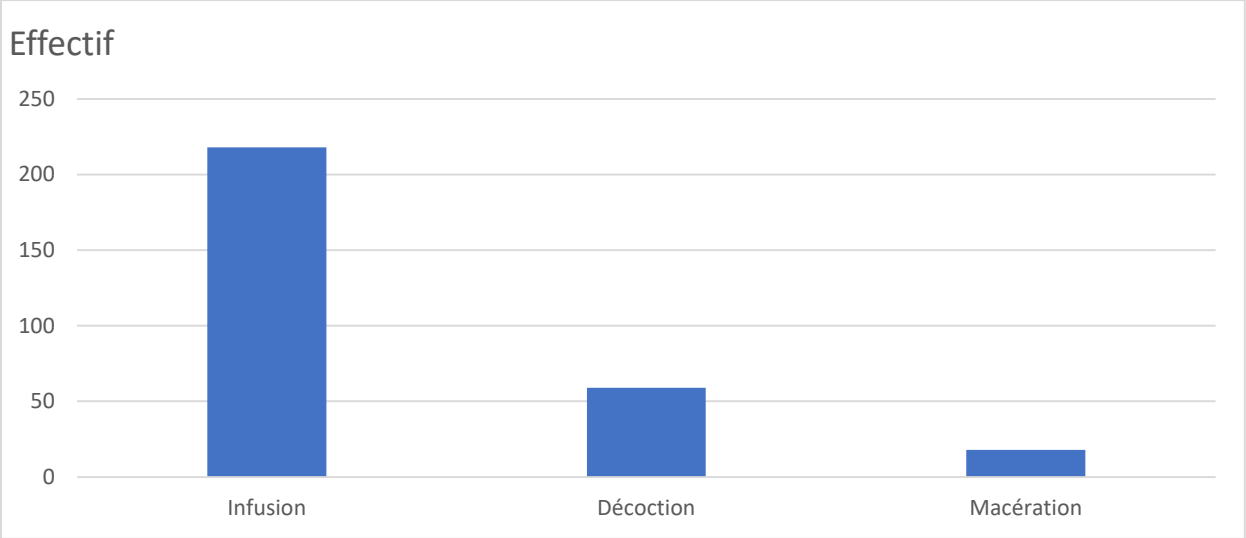


Figure 41: Fréquence des modes d'utilisations les plus cités par les herboristes dans la région de Fès Meknès pour le traitement des maladies rénales

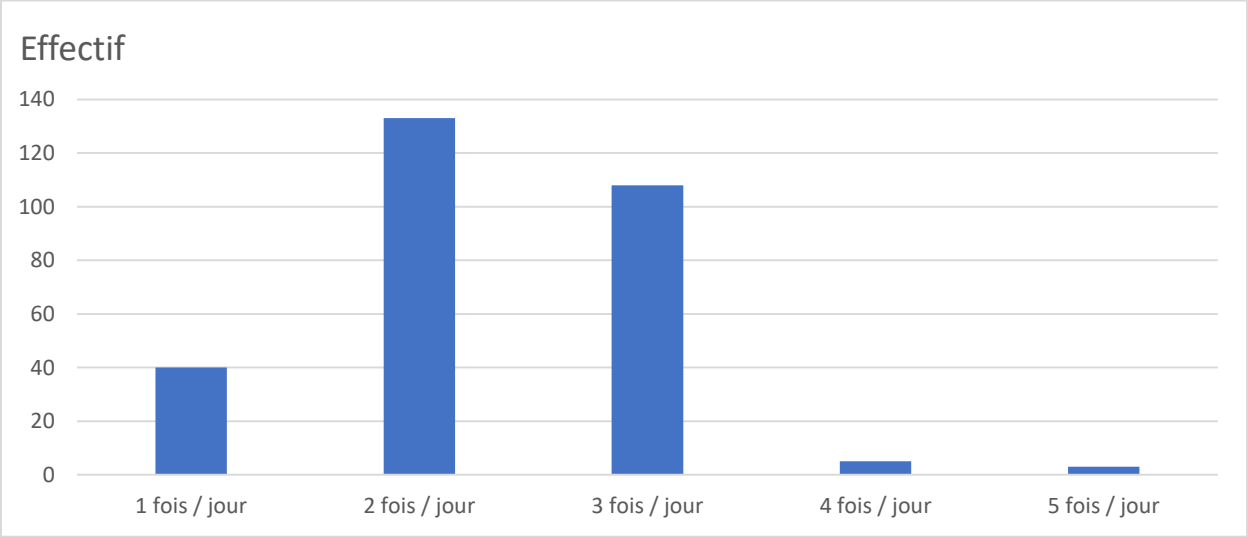


Figure 42: Fréquence d'utilisation des plantes par les herboristes dans la région de Fès Meknès pour le traitement des maladies rénales

Les résultats de notre enquête ont montré que la tige et les feuilles sont les parties les plus utilisées, suivies des graines puis des feuilles uniquement. L'utilisation de la partie aérienne (tige et feuilles seulement) peut s'expliquer par la facilité de la récolte et par la disponibilité de ces parties tout au long de l'année. Une autre raison est que la partie aérienne est le siège de la photosynthèse. Des résultats similaires ont été mis en évidence au Maroc, où les parties aériennes sont les plus utilisées pour le traitement traditionnel des maladies (Barkaoui et al., 2017; Eddouks

et al., 2017; Fakchich and Elachouri, 2014). Les mêmes résultats se corroborent en Algérie (Boudjelal et al., 2013), au Bangladesh (Kadir et al., 2012) et au Portugal (Neves et al., 2009).

De plus, les méthodes de préparation les plus utilisées étaient l'infusion, la décoction et la macération, vu que la majorité des plantes mentionnées dans notre étude sont à usage interne. Ce résultat a été rapporté par plusieurs études ethnopharmacologiques menées au Maroc et dans d'autres pays (Urso et al., 2016; Nowbandegani et al., 2015; Bahmani et al., 2014; El-Hilaly et al., 2003a). Cependant, les autres modes de préparations réservés normalement à l'usage externe comme le massage, le masque étaient absents dans notre enquête.

Notre enquête a montré que le mode d'administration le plus courant était la voie orale. Ce résultat peut être expliqué par le fait que la plupart des plantes sont préparées pour être ingéré 2 à 3 fois par jour (46% et 37,3% respectivement). Des résultats similaires ont été obtenus dans d'autres études au Maroc (Fakchich and Elachouri, 2014) et en Algérie (Benarba et al., 2015).

2. Analyses des indices ethnobotaniques

2.1. Nombre total des citations (NTC), valeur d'usage (UV) et valeur d'usage de la famille botanique (FUV)

Soixante-neuf espèces de plantes appartenant à 38 familles ont été citées par les herboristes pour le traitement traditionnel des maladies rénales. Notre enquête botanique a montré que les espèces suivantes : *Herniaria glabra* L., *Zea mays* L., *Zizyphus lotus* (L.) Lam., *Opuntia ficus - indica* (L.), *Petroselinum sativum* Hoffm., *lavandula officinalis*, *Rosmarinus officinalis* L., *Chamaemelum nobile* (L.) et *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. étaient les espèces végétales les plus citées par les herboristes de la région de Fès- Meknès avec un nombre total des citations (NTC) de 230, 201, 189, 160, 145, 140, 142, 135 et 133 respectivement.

Les plantes suivantes : *Herniaria glabra* L., *Zea mays* L., *Zizyphus lotus* (L.) Lam. et *Opuntia ficus - indica* (L.) Mill. représentaient les valeurs les plus élevées d'UV à 0,79, 0,69, 0,65 et 0,55 respectivement. Considérant que les valeurs UV les plus basses correspondaient aux espèces suivantes : *Eruca sativa* Mill., *Malva sylvestris* L., *Syzygium aromaticum* L., *Polygonum aviculare* L., *Fraxinus angustifolia* Vahl., *Salix alba* L. et *Lippia citriodora* HB & K. avec UV à 0,03.

Trente-huit familles ont été citées par les herboristes pour le traitement traditionnel de la maladie rénale, la valeur la plus élevée de FUV correspondaient aux familles suivantes :

Caryophyllaceae (FUV = 0,795), Cactaceae (FUV = 0,553), Rhamnaceae (FUV = 0,347), Poaceae (FUV) = 0,215), Lamiaceae (FUV = 0,195) et Apiaceae (FUV = 0,185). Alors que les valeurs les plus basses de FUV ont été retrouvées dans les familles des Agavaceae, Asparagaceae, Cupressaceae, Equisetaceae, Liliaceae et Theaceae avec une valeur FUV de 0,041, suivies des familles de Brassicaceae et Oleaceae avec une valeur FUV de 0,038, et des familles de Malvaceae , Myrtaceae, Polygonaceae et Verbenaceae avec une valeur FUV de 0,034.

Tableau 10: Liste des plantes médicinales utilisées par les herboristes dans la région de Fès Meknès pour le traitement des maladies rénales

Nom de la plante	Familles	Nom vernaculaire	Partie de la plante	NTC	UV	FUV
Agave americana L.	Agavaceae	Sebar	Feuilles	12	0,04	0,041
Petroselinum sativum Hoffm.	Apiaceae	Maadnous	Tige et feuilles	145	0,50	
Ammodaucus leucotrichus Coss. & Dur.	Apiaceae	Kamoun soufi	Graines	133	0,46	
Pimpinella anisum L.	Apiaceae	Habat Hlawa	Graines	39	0,13	
Apium graveolens L.	Apiaceae	Krafes	Tige et feuilles	27	0,09	0,185
Carum carvi L.	Apiaceae	Karwiya	Graine	27	0,09	
Ammi visnaga L.	Apiaceae	Bechnikha	Fruit	26	0,08	
Foeniculum vulgare Mill.	Apiaceae	Nafae	Graines	17	0,05	
Daucus carota subsp. *sativus* (Hoffm.)	Apiaceae	Jaada	Rhizome	15	0,05	
Asparagus officinalis L.	Asparagaceae	Sekoum	Racines	12	0,04	0,041
Chamaemelum nobile (L.) All.	Asteraceae	Babounej	Fleurs	135	0,46	
Artemisia herba alba Asso	Asteraceae	Chih	Tige et feuilles	22	0,07	0,156
Cynara cardunculus. L	Asteraceae	Khorchef	Fruits	12	0,04	
Anacyclus pyrethrum L.	Asteraceae	Oud Atras	Tige et feuilles	12	0,04	
Brassica oleracea L.	Brassicaceae	Carnabe	Feuilles	12	0,04	0,038
Eruca sativa Mill.	Brassicaceae	Jarjir	Feuilles	10	0,03	
Opuntia ficus – indica (L.) Mill.	Cactaceae	Hendia	Fleurs	160	0,55	0,553
Cassia absus L.	Caesalpiniaceae	Haba souda	Graines	13	0,04	0,044
Herniaria glabra L.	Caryophyllaceae	Haraset lhjar	Tige et feuilles	230	0,79	0,795
Juniperus phoenicea L.	Cupressaceae	Arar	Feuilles	12	0,04	0,041
Equisetum telmateia Ehrh.	Equisetaceae	Dil lhassane	Tige et feuilles	12	0,04	0,041
Euphorbia falcata L.	Euphorbiaceae	Hayat noufous	Tige et feuilles	37	0,12	
Caralluma europaea Guss	Euphorbiaceae	Daghmous	Tige	15	0,05	0,073
Ricinus communis L.	Euphorbiaceae	Kharwaa	Graines	12	0,04	

Trigonella foenum-graecum L.	Fabaceae	Halba	Graines	24	0,08	
Glycyrrhiza glabra L.	Fabaceae	Arek sous	Racines	23	0,07	0,063
Vicia faba L.	Fabaceae	Foul	Graines	14	0,04	
Ceratonia siliqua L.	Fabaceae	Kharoub	Fruit	12	0,04	
Pelargonium odoratissimum L.	Geraniaceae	Atracha	Feuilles	14	0,04	0,048
Crocus sativus L.	Iridaceae	Zaafrane	Style	19	0,06	0,065
Juncus acutus L.	Juncaceae	Smar	Graines	37	0,12	0,128
lavandula officinalis	Lamiaceae	Khzaama	Tige et feuilles	142	0,49	
Rosmarinus officinalis L.	Lamiaceae	Azir	Feuilles	140	0,48	
Origanum compactum Benth.	Lamiaceae	Zaater	Tige et feuilles	50	0,17	
Mentha gatefossei Maire	Lamiaceae	Fluo	Tige et feuilles	26	0,08	0,195
Satureja calamintha L.	Lamiaceae	Mantha	Tige et feuilles	14	0,04	
Marrubium vulgare L.	Lamiaceae	Mriwa	Tige et feuilles	12	0,04	
Ocimum basilicum L.	Lamiaceae	Rayhane	Tige	12	0,04	
Cinnamomum cassia Blume	Lauraceae	Karfa	Ecorce	23	0,07	0,079
Allium cepa L.	Liliaceae	Bsal	Rhizome	12	0,04	0,041
Linum usitatissimum L.	Linaceae	Ketane	Graines	18	0,06	0,062
Punica granatum L.	Lythraceae	Ramane	Fruits	18	0,06	0,062
Malva sylvestris L.	Malvaceae	Khebiza	Tige et feuilles	10	0,03	0,034
Syzygium aromaticum L.	Myrtaceae	Kronfol	Graines	10	0,03	0,034
Olea europaea L.	Oleaceae	Zitoun	Feuilles	12	0,04	
Fraxinus angustifolia Vahl.	Oleaceae	Lsan tour	Tige	10	0,03	0,038
Piper cubeba L.F.	Piperaceae	Kababa	Tige et feuilles	23	0,07	0,079
Zea mays L.	Poaceae	Dra	Soies	201	0,69	
Hordeum vulgare L.	Poaceae	Chair	Graines	23	0,07	0,215
Avena sativa L.	Poaceae	Khertale	Graines	13	0,04	
Cynodon dactylon L.	Poaceae	Njem	Racines	12	0,04	
Polygonum aviculare L.	Polygonaceae	Batbat	Feuilles	10	0,03	0,034
Nigella sativa L.	Ranunculaceae	Sanouj	Graines	39	0,13	0,134
Zizyphus lotus (L.) Lam.	Rhamnaceae	Nbeg	Fruits	189	0,65	0,347
Rhamnus cathartica L.	Rhamnaceae	Oud lkiset	Racines	12	0,04	
Prunus amygdalus Stokes	Rosaceae	Louz lmor	Fruits	16	0,05	0,053
Rubus ulmifolius Schott	Rosaceae	Alik	Fruits	15	0,05	
Rubia peregrina L.	Rubiaceae	Fouwa	Tige	54	0,18	0,186
Ruta montana L.	Rutaceae	Fijel	Rhizome	22	0,07	

Citrus limon (L.) *Burm.* F	*Rutaceae*	Hamed	Fruits	14	0,04	
Populus alba L.	Salicaceae	Safsafe	Feuilles	16	0,05	0,044
Salix alba L.	Salicaceae	Oud lma	Tige et feuilles	10	0,03	
Camellia thea Link	Theaceae	Atay	Feuilles	12	0,04	0,041
Daphne gnidium L.	Thymelaeaceae	Matnane	Tige	24	0,08	0,083
Tilia cordata Mill.	Tiliaceae	Zayzafoune	Tige et feuilles	15	0,05	0,051
Urtica Dioica L.	Urticaceae	Heriga	Tige et feuilles	36	0,12	0,124
Lippia citriodora H.B & K.	Verbenaceae	Lwiza	Feuilles	10	0,03	0,034
Alpinia officinarum Hance	Zingiberaceae	Khoudnjal	Rhizome	20	0,06	0,055
Curcuma longa L.	*Zingiberaceae*	Korkom	Rhizome	12	0,04	

NTC: Nombre total des citations; UV: valeur d'usage; FUV : valeurs d'utilisation familiale.

L'indice de valeur d'usage (UV) sert à montrer l'importance de chaque espèce végétale utilisée pour traiter différentes maladies en médecine traditionnelle. Dans le cadre de notre enquête ethnopharmacologique, les espèces végétales suivantes : *Herniaria glabra* L., *Zea mays* L., *Zizyphus lotus* (L.) Lam. et *Opuntia ficus - indica* (L.) Mill. étaient les plantes les plus citées et représentaient les valeurs les plus élevées d'UV. *Herniaria glabra* L. est très utilisée dans le traitement traditionnel des maladies du rein au Maroc (Eddouks et al., 2002; Jouad et al., 2001a) et dans d'autres pays, tels que la Turquie (Yeşilada et al., 1993). Dans le sud-est et le centre-nord du Maroc, elle est employée comme plante antidiabétique et antihypertensive (Tahraoui et al., 2007; Eddouks et al., 2002; Jouad et al., 2001a). D'autre part, cette plante est utilisée dans d'autres pays, comme l'Inde comme plante antioxydante (Nikolova et al., 2011) et en Bulgarie comme diurétique et spasmolytique (Ivancheva et al., 2000).

Le maïs (*Zea mays* L.) est la deuxième plante citée dans notre étude avec (TNC = 201) et (UV = 269), son usage pour le traitement des maladies rénale a été rapporté dans des études marocaines (El-Hilaly et al., 2003b; Jouad et al., 2001a) et également dans d'autres pays tels que la Jordanie et l'Italie (Neves et al., 2009; Abu-Irmaileh et al., 2003). Dans l'ouest du Nigéria et le sud-est du Maroc, elle est utilisé comme plante antidiabétique et antihypertensive (Kadir et al., 2012; Tahraoui et al., 2007), alors que dans le nord du Portugal, elle est utilisé comme antidiabétique, anti-inflammatoire, cardiotonique, cholagogue et diurétique (Neves et al., 2009).

Zizyphus lotus (L.) Lam. (UV = 0,65), cette plante est utilisée traditionnellement dans plusieurs régions du Maroc pour traiter les maladies du rein (Fakchich and Elachouri, 2014; Jouad et al., 2001a), dans d'autres régions du Maroc et de l'Algérie, elle est utilisée comme antidiabétique et

antihypertensive (Barkaoui et al., 2017; Rachid et al., 2012; Allali et al., 2008; Tahraoui et al., 2007; Ziyyat et al., 1997). En Algérie, cette plante est utilisée comme anti-inflammatoire, cicatrisant les plaies et pour soigner l'eczéma (Boudjelal et al., 2013), alors qu'elle est utilisée dans le sud-ouest de ce pays pour traiter les infections des voies urinaires et la prostate (Sekkoum et al., 2011).

Concernant la plante *opuntia ficus - indica* (L.) Mill qui a une UV à 0,55, les fleurs de cette plante sont utilisées dans le nord-centre et le sud-est du Maroc comme antihypertensive et antidiabétique (Tahraoui et al., 2007; Jouad et al., 2001a) et pour traiter les pathologies digestives et dermiques (Fakchich and Elachouri, 2014).Cette plante utilisée dans les pays méditerranéens pour traiter plusieurs maladies telles que les maladies digestives et musculaires en Algérie, les maladies rénales à Chypre, les maladies respiratoires en Espagne et les maladies de peau en Palestine (González-Tejero et al., 2008; Ali-Shtayeh et al., 2000).

La valeur d'usage familial (FUV), représente la relation entre les familles botaniques et le nombre total d'espèces de plantes dans ces familles. En accord avec notre enquête, les herboristes ont cité 38 familles pour le traitement traditionnel de la maladie rénale. Ce nombre représente 24,35% du nombre total de familles botaniques présentes au Maroc (150 familles botaniques selon Fennane et Ibn tattou) (Fennane et Ibn tattou, 2008). La valeur la plus élevée de FUV correspond aux familles suivantes: Caryophyllaceae (FUV = 0,795), Cactaceae (FUV = 0,553), Rhamnaceae (FUV = 0,347), Poaceae (FUV = 0,215), Lamiaceae (FUV = 0,195) et Apiaceae (FUV = 0,185). Les familles de Caryophyllaceae et de Cactaceae ont les valeurs les plus élevées de la valeur d'utilisation familiale n'étaient représentées que par une seule espèce pour chaque famille; *Herniaria glabra* L. et *Opuntia ficus - indica* (L.) Mill. respectivement. Ces espèces de plantes sont connues de la plupart des herboristes comme étant des plantes antilithiasiques, ce qui confère à ses familles botaniques les plus grandes valeurs. La famille des Rhamnaceae occupait la troisième position, 2 espèces de plantes appartenant à cette famille ; *Zizyphus lotus* (L.) Lam. et *Rhamnus cathartica* L. Un enquête ethnopharmacologique montrent l'importance de cette famille (Muthee et al., 2011). Par ailleurs, des enquêtes ethnopharmacologiques dans de nombreuses régions du Maroc ont révélé que l'espèce de *Zizyphus lotus* (L.) Lam. est responsable de la popularité de cette famille (Barkaoui et al., 2017; Eddouks et al., 2017; Fakchich and Elachouri, 2014; Tahraoui et al., 2007; Jouad et al., 2001a).

La famille des Lamiaceae occupait la cinquième position avec une valeur de FUV de 0,195. Dans notre enquête, cette famille est représentée par 7 plantes ; *lavandula officinalis*, *Rosmarinus*

officinalis L., Origanum compactum Benth., Mentha gatefossei Maire, Satureja calamintha L., *Marrubium* vulgare L. et *Ocimum basilicum* L. La popularité de cette famille pour ses plantes aromatiques et médicinales réside leur citation dans plusieurs enquêtes ethnopharmacologiques menées au Maroc (Barkaoui et al., 2017; Eddouks et al., 2017; Teixidor-Toneu et al., 2016, Fakchich and Elachouri, 2014), en Algérie (Boudjelal et al., 2013) et en Turquie (Güzel et al., 2015)

2.2.Niveau de fidélité (FL) et priorité de classement (ROP)

Le niveau de fidélité correspond au pourcentage d'herboristes qui ont mentionné les utilisations d'une plante pour traiter une maladie particulière dans une zone d'étude. C'est un indice qui est largement utilisé pour les usages médicinaux des plantes.

Les valeurs les plus élevées de FL correspondent aux espèces de plantes suivantes : *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. (100%), *Chamaemelum nobile* (L.) (97%), *lavedula officinalis* (92%), *Rosmarinus officinalis* L. (95%) et *Petroselinum sativum* Hoffm. (89%) pour le traitement de l'œdème et de la colique rénale. *Opuntia ficus - indica* (L.) Mill. (97%), *Zea mays* L. (97%), *Zizyphus lotus* (L.) Lam. (95%) et *Herniaria glabra* L. (91%) pour le traitement de la lithiase rénale. De plus, *Polygonum aviculare* L (70%), *Rubia peregrina* L. (74%), *Ruta montana* L. (86%), destinés au traitement de la pyélonéphrite aiguë.

Le Tableau 11 montre que les plantes suivantes : *Herniaria glabra* L., *Zea mays* L. et *Zizyphus lotus* (L.) Lam. avaient les valeurs les plus élevées de ROP à 91%, 84% et 78% respectivement. Alors que les valeurs les plus basses correspondaient à *Eruca sativa* Mill., *Allium cepa* L, *Malva sylvestris* L. et *Lippia citriodora* H.B & K. avec des valeurs de ROP de 2%.

Tableau 11: Niveaux de fidélité et ordres de classement prioritaires pour les principales espèces de plantes et leurs principales utilisations.

Maladie	Plante utilisée	Np	N	FL	RP	ROP
Lithiase rénale	*Pimpinella anisum* L.	22	39	56%	0,16	9%
	Ammi visnaga L.	22	26	84%	0,11	9%
	Foeniculum vulgare Mill.	12	17	70%	0,07	5%
	Artemisia herba alba Asso	14	22	63%	0,09	6%
	Opuntia ficus – indica (L.) Mill.	156	160	97%	0,69	67%
	Herniaria glabra L.	211	230	91%	1	91%
	Equisetum telmateia Ehrh.	9	12	75%	0,05	3%
	Ricinus communis L.	9	12	75%	0,05	3%
	Crocus sativus L.	10	19	52%	0,08	4%
	Juncus acutus L.	30	37	81%	0,16	13%
	Punica granatum L.	14	18	77%	0,07	6%
	Olea europaea L.	7	12	58%	0,05	3%
	Zea mays L.	195	201	97%	0,87	84%
	Zizyphus lotus (L.) Lam.	180	189	95%	0,82	78%
	Citrus limon (L.) *Burm.* f	10	14	71%	0,06	4%
	Populus alba L.	13	16	81%	0,06	5%
Œdème et colique néphrétique	*Petroselinum sativum* Hoffm.	130	145	89%	0,63	56%
	Ammodaucus leucotrichus Coss. & Dur.	133	133	100%	0,57	57%
	Chamaemelum nobile (L.) All.	132	135	97%	0,58	57%
	Trigonella foenum-graecum L.	17	24	70%	0,10	7%
	Vicia faba L.	8	14	57%	0,06	3%
	lavandula officinalis	132	142	92%	0,61	57%
	Rosmarinus officinalis L.	133	140	95%	0,60	57%
	Cinnamomum cassia Blume	17	23	73%	0,1	7%
	Allium cepa L.	6	12	50%	0,05	2%
	Piper cubeba L.F.	16	23	69%	0,1	6%
	Tilia cordata Mill.	11	15	73%	0,06	4%
Pyélonéphrite aiguë	*Daucus carota* subsp. *sativus* (Hoffm.)	10	15	66%	0,06	4%
	Asparagus officinalis L.	8	12	66%	0,05	3%
	Malva sylvestris L.	6	10	60%	0,04	2%
	Polygonum aviculare L.	7	10	70%	0,04	3%
	Rubia peregrina L.	40	54	74%	0,23	17%
	Ruta montana L.	19	22	86%	0,09	8%
Infections urinaires	*Carum carvi* L.	20	27	74%	0,11	8%
	Cynara cardunculus. L	7	12	58%	0,05	3%
	Eruca sativa Mill.	5	10	50%	0,04	2%
	Glycyrrhiza glabra L.	20	23	86%	0,1	8%
	Pelargonium odoratissimum L.	11	14	78%	0,06	4%

	Origanum compactum Benth.	41	50	82%	0,21	17%
	Mentha gatefossei Maire	18	26	69%	0,11	7%
	Ocimum basilicum L.	7	12	58%	0,05	3%
	Linum usitatissimum L.	9	18	50%	0,07	3%
	Hordeum vulgare L.	16	23	69%	0,1	6%
	Nigella sativa L.	28	39	71%	0,16	12%
	Prunus amygdalus Stokes	10	16	62%	0,06	4%
	Urtica Dioica L.	27	36	75%	0,15	11%
	Lippia citriodora H.B & K.	6	10	60%	0,04	2%
Hématurie	*Apium graveolens* L.	16	27	59%	0,11	6%
	Euphorbia falcata L.	29	37	78%	0,16	12%
	Rubus ulmifolius Schott	11	15	73%	0,06	4%
	Daphne gnidium L.	18	24	75%	0,10	7%
	Alpinia officinarum Hance	9	20	45%	0,08	3%
Cancer du rein	*Caralluma europaea* Guss	11	15	73%	0,06	4%

Np: Nombre d'informateurs qui mentionnent une plante pour un certain usage; N: Nombre d'informateurs qui mentionnent la plante pour n'importe quel usage; FL: Niveau de fidélité; RP: Popularité relative; ROP: Priorité de classement

Le Tableau 11 présente les espèces de plantes utilisées dans le traitement des maladies rénales. Par exemple, pour l'*ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. (FL = 100%), tous les herboristes préconisent son utilisation dans le traitement de l'œdème et des coliques néphrétiques. Cette plante est également utilisée dans d'autres régions du Maroc pour les mêmes pathologies (El Rhaffari and Zaid, 2002) et pour traiter d'autres maladies comme les pathologies du système digestif, les pathologies de l'appareil reproducteur et les maladies cardiaques (Fakchich and Elachouri, 2014; Jouad et al., 2001a). *Chamaemelum nobile* (L.) All., une autre plante utilisée pour traiter l'œdème et la colique rénale avec une valeur de FL de 97%. Ce résultat est conforme à celui d'une étude réalisée au Portugal où cette plante est utilisée pour traiter la même maladie (Novais et al., 2004). Il est également utilisé dans la région du sud-est du Maroc pour le traitement traditionnel de l'hypertension et des maladies cardiaques (Jouad et al., 2001a). Concernant le traitement traditionnel de la lithiase rénale, *Opuntia ficus - indica* (L.) Mill. et *Zea mays* L. ont une valeur maximale de FL égale à 97%. Ce résultat est en accord avec une étude réalisée dans le centre-nord du Maroc (Jouad et al., 2001a).

Concernant l'analyse du ROP, les espèces végétales suivantes : *Herniaria glabra* L. (ROP = 91%), *Zea mays* L. (ROP = 84%), *Zizyphus lotus* (L.) Lam. (ROP = 78%) et *Opuntia ficus - indica* (L.) Mill. (ROP = 67%) ont les valeurs les plus élevées de ROP, ce qui signifie que ces plantes sont les plus recommandées par les herboristes dans le traitement des maladies du rein. Toutefois,

les espèces végétales suivantes : *Eruca sativa* Mill., *Allium cepa* L., *Malva sylvestris* L., *Lippia citriodora* HB & K. avec une valeur de ROP égale à 2% et *Asparagus officinalis* L. *Cynara cardunculus* L., *Equisetum telmateia* Ehrh., *Ricinus communis* L., *Vicia faba* L., *Ocimum basilicum* L., *Linum usitatissimum* L., *Olea europaea* L., *Polygonum aviculare* L. et *Alpinia officinarum* Hance d'une valeur égale à 3% sont les moins conseillées par les herboristes dans le traitement des maladies rénales dans la région de Fès-Meknès.

2.3.Facteur de consensus des informateurs (FIC)

Pour traiter une catégorie de maladies parmi les espèces des plantes sélectionnées dans l'enquête, le facteur de consensus des informateurs (FIC) a été utilisé pour révéler l'homogénéité des informations fournies par les informateurs sur ces plantes. Dans cette étude, les affections avec les valeurs les plus élevées du facteur de consensus de l'informateur étaient les suivantes : pyélonéphrite aiguë (FCI = 0,94), œdème et coliques néphrétiques (FCI = 0,93) et cancer du rein (FCI = 0,93). Ces résultats reflètent l'importance accordée à ces maladies par les herboristes de la région de Fès-Meknès. D'autres affections ont également une valeur FCI élevée, telles que la lithiase rénale (FCI = 0,89), les infections urinaires (FCI = 0,90) et l'hématurie (FCI = 0,88). De manière générale, l'importance accordée aux maladies du rein a été citée dans plusieurs études ethnopharmacologiques récentes dans d'autres pays, tels que l'Algérie (Benarba, 2016), le Bangladesh (Faruque et al., 2018) et la Jordanie (Abdelhalim et al., 2017).

Tableau 12: Facteur de consensus des informateurs des catégories d'affections

Catégorie de maladie	Maladies	Nur	Nt	FCI
Maladie rénale	Lithiase rénale	260	27	0,89
	Œdème et colique rénale	245	16	0,93
	Infections urinaires	144	14	0,90
	Pyélonéphrite aiguë	89	6	0,94
	Hématurie	37	5	0,88
	Cancer du rein	17	2	0,93

Nur: Nombre de fois qu'une catégorie particulière « p » d'affection a été mentionnée; **Nt:** Nombre de plante(s) mentionnée(s) pour le traitement de cette affection particulière « p », FCI : Facteur Consensuel de l'Informateur

III. Association entre les caractéristiques sociodémographiques des herboristes et les connaissances des plantes

1. Relation entre l'âge des herboristes et le nombre d'espèces de plantes citées

Le test de Pearson a révélé une association significative (r = 0,203, p = 0,001) entre l'âge des herboristes et le nombre d'espèces de plantes citées.

2. Relation entre les caractéristiques sociodémographiques et les connaissances sur les plantes toxiques

Le Tableau 13 illustre l'association entre les caractéristiques sociodémographiques et les connaissances sur les plantes toxiques. Le niveau d'éducation et la source d'acquisition des connaissances ont eu un impact significatif (p = 0,001) sur les connaissances relatives aux plantes toxiques. De plus, les années d'expérience ont eu un impact significatif sur la connaissance des plantes toxiques avec une valeur égale à (p = 0,03). Alors que, les herboristes ayant une grande expérience (13-20 ans ou > 20 ans) connaissaient plusieurs plantes pouvant être toxiques. Les herboristes ayant moins de 6 ans d'expérience sont également sensibilisés sur les plantes toxiques.

Tableau 13: Association entre les connaissances sur les plantes toxiques et les caractéristiques sociodémographiques des herboristes

		Connaissances sur plantes toxiques		*p* value
		Non	Oui	
Niveau d'éducation (N = 289)	Illettré (N = 57)	47(82,5%)	10 (17,5%)	0 ,001
	Niveau primaire (N = 95)	77 (81%)	18 (19%)	
	Niveau secondaire (N = 102)	24 (23,5%)	78 (76,5%)	
	Universitaire (N = 35)	5 (14,2%)	30 (85,8%)	
Source de connaissances (N = 289)	Expérience ancestrale (N= 165)	102 (61,8%)	63 (38,2%)	0,03
	Expérience ancestrale et internet (N = 3)	0	3 (100%)	
	Expérience ancestrale et media (N = 75)	34 (45,3%)	41 (54,7%)	
	Media et internet (N = 9)	2 (22,2%)	7 (77,8%)	
	Livres (N = 37)	15 (40,5%)	22 (59,5%)	
Années d'expérience (N = 289)	< 6 ans (N = 13)	3 (23%)	10 (77%)	0,001
	7 - 12 ans (N = 146)	103 (70,5%)	43 (29,5%)	
	13 - 20 ans (N = 90)	32 (35,5%)	58 (64,5%)	
	> 20 ans (N = 40)	15 ((37,5%)	25 (62,5%)	

Le test de Pearson a révélé une association significative entre l'âge des herboristes et le nombre d'espèces de plantes citées. Par conséquent, les herboristes les plus âgés citent plus d'espèces de plantes que les jeunes herboristes. Aucune étude de ce genre n'a été effectuée dans les études ethnobotaniques marocaines. Néanmoins, à l'échelle international cette constatation est conforme aux autres enquêtes ethnopharmacologiques menées dans le nord de la Thaïlande (Srithi et al., 2009).

IV. Données sur les mixtures de plantes les plus utilisées dans le traitement des maladies rénales

En phytothérapie, les mélanges de composés sont considérés plus efficaces que les composés individuels. Dans notre enquête, plusieurs mélanges ont été cités par les herboristes. Généralement, les herboristes préfèrent mélanger les plantes les plus connues dans le traitement d'une pathologie donnée pour obtenir un résultat efficace. Par exemple, dans le traitement traditionnel de la lithiase rénale par les herboristes de la région de Fès-Meknès, le mélange le plus cité (NTC = 257) est composé de quatre plantes ; ce sont les plantes avec la valeur la plus élevée d'UV et de FL: *Herniaria glabra* L. (UV = 230, FL = 91%), *Zizyphus lotus* (L.) Lam. (UV = 189, FL = 95%), *Opuntia ficus - indica* (L.) Mill. (UV = 160, FL = 97%) et *Zea mays* L. (UV = 201, FL = 97%). Les herboristes citent d'autres mélanges de composition végétale inconnue. Ils sont emballés et étiquetés. Les plus utilisés sont : HERBO-REIN (80%), HERBOVESSIEREIN (10%) et autres (10%). Ces mélanges peuvent contenir des composés toxiques, d'où la nécessité d'évaluer leurs toxicités.

Tableau 14: Liste des mixtures citées par les herboristes dans la région de Fès Meknès pour le traitement des maladies rénales

Maladies	Mixture de plantes	Familles	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Mode de préparation	Utilisation	NTC
Lithiase rénale	*Herniaria glabra* L.	Caryophyllaceae	Haraset lhjar	Tige et Feuilles	Infusion, Décoction	3 fois par jour	257
	Zizyphus lotus (L.) Lam.	Rhamnaceae	Nbeg	Fruit			
	Opuntia ficus – indica (L.) Mill.	Cactaceae	Hendia	Fleurs			
	Zea mays L.	Poaceae	Dra	Soies			
	Rosmarinus officinalis L.	Lamiaceae	Azir	Feuilles	Infusion, Décoction	3 fois par jour	109
	Nigella sativa L.	Ranunculaceae	Sanouj	Graines			
	Juncus acutus L.	Juncaceae	Smar	Graines			
	Euphorbia falcata L.	Euphorbiaceae	Hayat noufous	Tige et Feuilles			
	Origanum compactum Benth.	Lamiaceae	Zaater	Tige et Feuilles			
	Petroselinum sativum Hoffm.	Apiaceae	Maadnous	Tige et Feuilles			
	Urtica Dioica L.	Urticaceae	Heriga	Tige, Feuilles et Graines			
Œdème et colique rénale	*Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur.	Apiaceae	Kamoun soufi	Graines	Infusion, décoction	3 fois par jour	235
	Petroselinum sativum Hoffm.	Apiaceae	Maadnous	Tige et Feuilles			
	Chamaemelum nobile (L.) All.	Asteraceae	Babounej	Fleurs			
	Rosmarinus officinalis L.	Lamiaceae	Azir	Feuilles			
	lavandula officinalis	Lamiaceae	Khzaama	Tige et Feuilles			
	Herniaria glabra L.	Caryophyllaceae	Haraset lhjar	Tige et Feuilles	Infusion, décoctions	2 fois par jour	76
	Zea mays L.	Poaceae	Dra	Silks			

	Origanum compactum Benth.	Lamiaceae	Zaater	Tige et Feuilles			
	Zizyphus lotus (L.) Lam.	Rhamnaceae	Nbeg	Fruit			
	Mentha gatefossei Maire	Lamiaceae	Fluo	Tige et Feuilles			
Infections urinaires	*Herniaria glabra* L.	Caryophyllaceae	Haraset lhjar	Tige et Feuilles	Infusion, décoction	2 fois par jour	36
	Zizyphus lotus (L.) Lam.	Rhamnaceae	Nbeg	Fruit			
	Origanum compactum Benth.	Lamiaceae	Zaater	Tige et Feuilles			
	Pimpinella anisum L.	Apiaceae	Habat Hlawa	Graines			
Hématurie	*Zea mays* L.	Poaceae	Dra	Silks	Infusion, décoction	3 fois par jour	31
	Alpinia officinarum Hance	Zingiberaceae	Khounaj	Rhizome			
	Herniaria glabra L	Caryophyllaceae	Haraset lhjar	Tige et Feuilles			
	Ruta montana L.	Rutaceae	Fijel	Rhizome			
	Opuntia ficus – indica (L.) Mill.	Cactaceae	Hendia	Fleurs			
	Daphne gnidium L.	Thymelaeaceae	Matnane	Tige et Feuilles			
Pyélonéphrite aiguë	*Euphorbia falcata* L.	Euphorbiaceae	Hayat noufous	Tige et Feuilles	Infusion, décoction	2 fois par jours	17
	Polygonum aviculare L.	polygonaceae	Batbat	Feuilles			
	Malva sylvestris L.	Malvaceae	Khebiza	Feuilles, tiges			
	Ruta montana L.	Rutaceae	Fijel	Rhizome			
	lavandula officinalis	Lamiaceae	Khzaama	Tige et Feuilles			
	Apium graveolens L.	Apiaceae	Krafes	Tige et Feuilles			
	Asparagus officinalis L.	Asparagaceae	Sekoum	Racines			
Cancer du rein	*Caralluma europaea Guss*	Euphorbiaceae	Daghmous	Tige	Poudre de *Caralluma europaea* mélangée à du miel et ajouter quelques gouttes de jus de citron	1 fois par jour	2
	Citrus limon (L.) Burm. f	*Rutaceae*	Hamed	Fruits			
	Miel	**	**	**			

Chapitre II : screening phytochimique des mixtures utilisées dans le traitement traditionnel des maladies rénales

I. Criblage phytochimique des mixtures

Pour M1: Le criblage phytochimique de l'extrait aqueux du mélange a révélé la présence de tanins catéchiques, galliques, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de glycosides cardiaques et de Mucilage. Toutefois, les saponines, les leucoanthocyanes, la coumarine, le catéchol et les quinones libres n'ont pas été détectés (Tableau 15).

Tableau 15: Screening phytochimique de l'extrait aqueux de la M1

Composés chimiques	Résultats
Tanins totaux	+
Tanins catéchiques	+
Tanins galliques	+
Saponines	-
Flavonoïdes	+
Leucoanthocyanes	-
Catéchols	-
Coumarines	-
Alcaloïdes	+
Glycosides cardiaques	+
Quinones libres	-
Mucilages	+

(+) Présent, (-) Absent

Pour M2 : Le criblage phytochimique d'extrait aqueux de mélange a révélé la présence de tanins, tanins catéchiques, tanins galliques, saponines, flavonoïdes, leucoanthocyanes, catéchols, coumarines, alcaloïdes, glycosides cardiaques et mucilage. Cependant, les quinones libres n'ont pas été détectées (Tableau 16).

Tableau 16: screening phytochimique de l'extrait aqueux de M2

Composés chimiques	Résultats
Tanins totaux	+
Tanins catéchiques	+
Tanins galliques	+

Saponines	+
Flavonoïdes	+
Leucoanthocyanes	+
Catéchols	+
Coumarines	+
Alcaloïdes	+
Glycosides cardiaques	+
Quinones libres	-
Mucilages	+

(+) = Présent, (-) = absent

Le criblage phytochimique de l'extrait aqueux des mixtures a montré la présence de plusieurs composés chimiques tels que des tanins catéchiques, galliques, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des glycosides cardiaques et du mucilage. Ce nombre important de composés peut s'expliquer par les mixtures constituées de cinq plantes (*Rosmarinus Officinalis, Ammodaucus leucotrichus, Chamaemelum Nobile, Petroselinum crispum, Lavandula officinalis*). Nos résultats sont en concordance avec d'autre recherches qui montrent que les flavonoïdes et les tanins ont été découverts lors d'un criblage phytochimique de *Lavandula officinalis* (Shafaghat et al., 2012), *Petroselinum crispum* (Al-Howiriny et al., 2003), *Chamaemelum Nobile* (Al-Snafi, 2016) et *Rosmarinus Officinalis* (FADILI et al., 2015). Les tanins catéchiques, les tanins galliques et les mucilages ont également été découverts chez *Rosmarinus Officinalis* (FADILI et al., 2015). Cependant, les alcaloïdes ont été révélé dans *Petroselinum crispum* (Al-Howiriny et al., 2003).

Nos résultats sont conformes à une étude algérienne confirmant la présence de plusieurs composés chimiques dans *Chamaemelum Nobile* tels que les glucosides, les mucilages, les flavonoïdes, les tanins totaux, les saponosides, les tanins condensés, les tanins galliques et les alcaloïdes (Boudıeb et al., 2018). Une autre étude a confirmé la présence de glucoses cardiotoniques, de saponines, de flavonoïdes, de coumarines, d'alcaloïdes, de tanins, de stérols et de triterpènes dans des fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* (Sebaa et al., 2018). L'absence de saponines dans l'extrait aqueux des mixtures. Cependant, ces composés ont été révélés dans *Ammodaucus leucotrichus* et dans

Chamaemelum Nobile, peut s'expliquer par une influence géoclimatique sur le contenu en métabolites secondaires.

La présence de ces composés peut avoir des effets néfastes sur les organes vitaux tels que le foie et les reins. Plusieurs études ont montré que l'utilisation quotidienne des doses importantes de flavonoïdes et d'isoflavonoïdes provoque une cytotoxicité et une toxicité mitochondriale dues aux cycles phénoliques donnant des radicaux phénoxyles (Galati et al., 2004). D'autres études ont montré une hépatotoxicité chez la souris causée par le gallate de flavonoïde et le gallate de propyle phénolique (Galati et al., 2006).

II. Dosage par HPLC-DAD

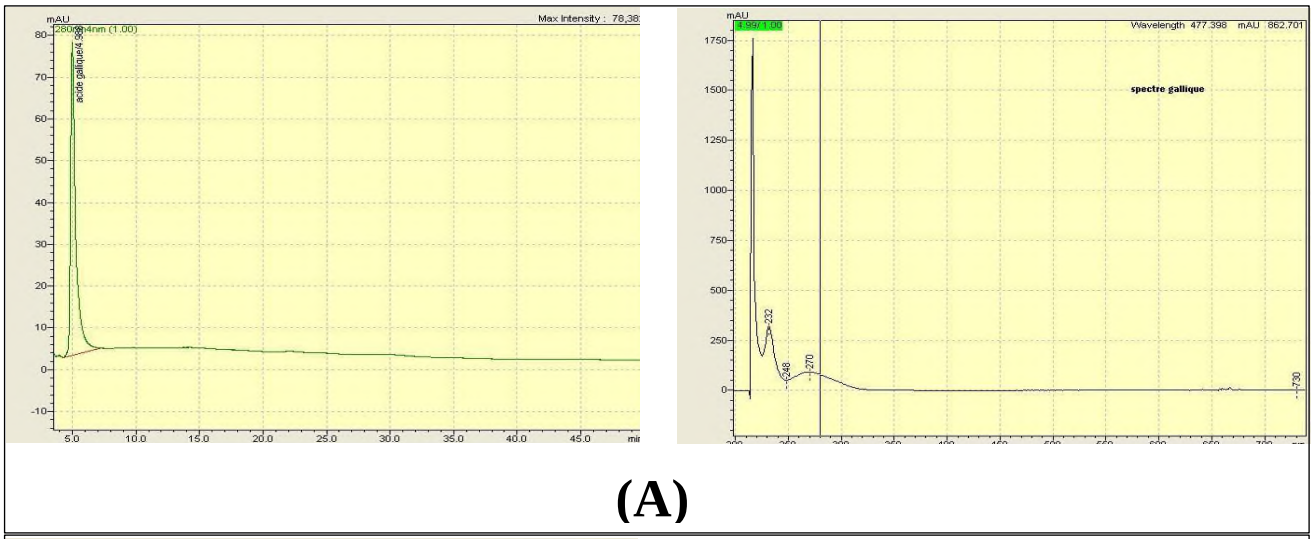
1. Dosage des standards

Tableau 17 représente les standards analysées, leurs temps de rétention et leurs longueurs d'onde.

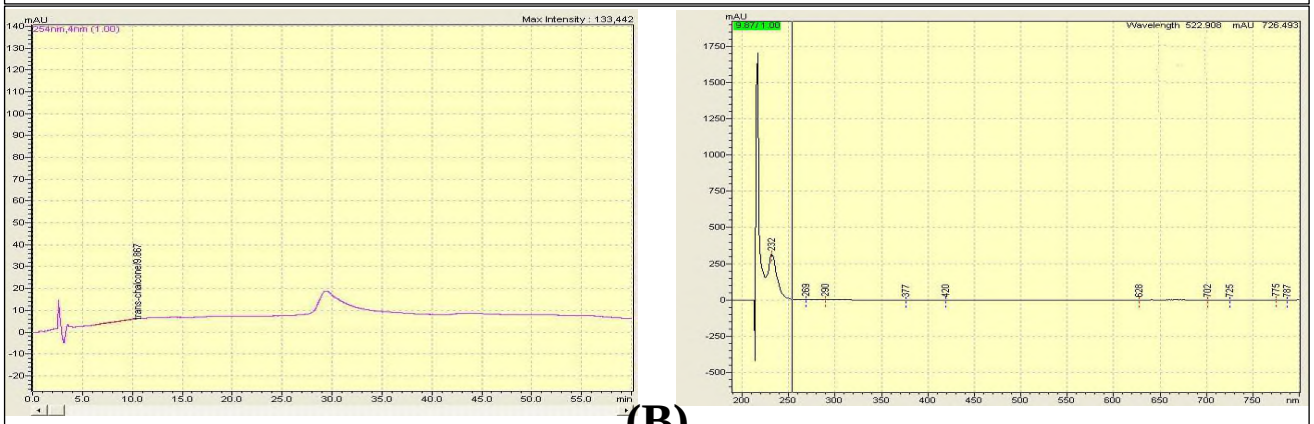
Tableau 17: Analyse des standards par HPLC-DAD

Standards	Temps de rétention (TR)	Longueur d'onde (λ)
Acide gallique	4, 98 min	280 nm
Trans chalcone	9.86 min	254 nm
Acide 3, 4 hydroxycinnamique	12,98 min	280 nm
Acide tannique	13,38 min	270 nm
Acide 4, hydrox**y**benzoique	13,84 min	254 nm
4-Hydroxyphenylacetaldehyde	14,35 min	270 nm
Acide chlorogénique	16,65 min	330 nm
Acide syringique	18,10 min	254 nm
Acide caféique	18,39 min	310 nm
Quercétine	19,30 min	360 nm
Acide p-coumarique	23,91 min	300 nm
Acide coumarique	24,40 min	300 nm
Acide sinapique	27,09 min	310 nm
Vanilline	20,51 min	360 nm
Rutine	30,44 min	254 nm

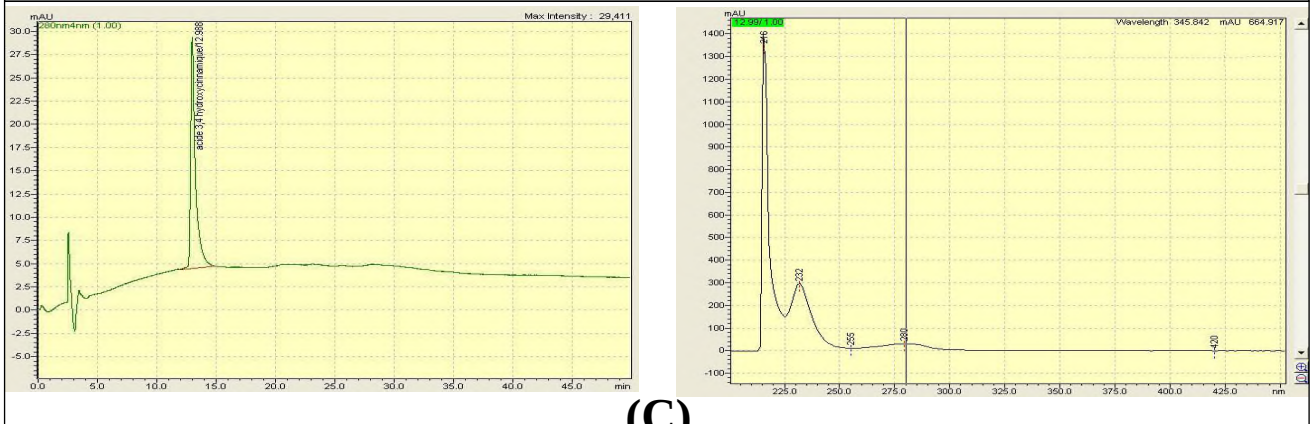
Alors que, la figure 43 montre les chromatogrammes des standards et leurs spectres d'absorption UV-VIS



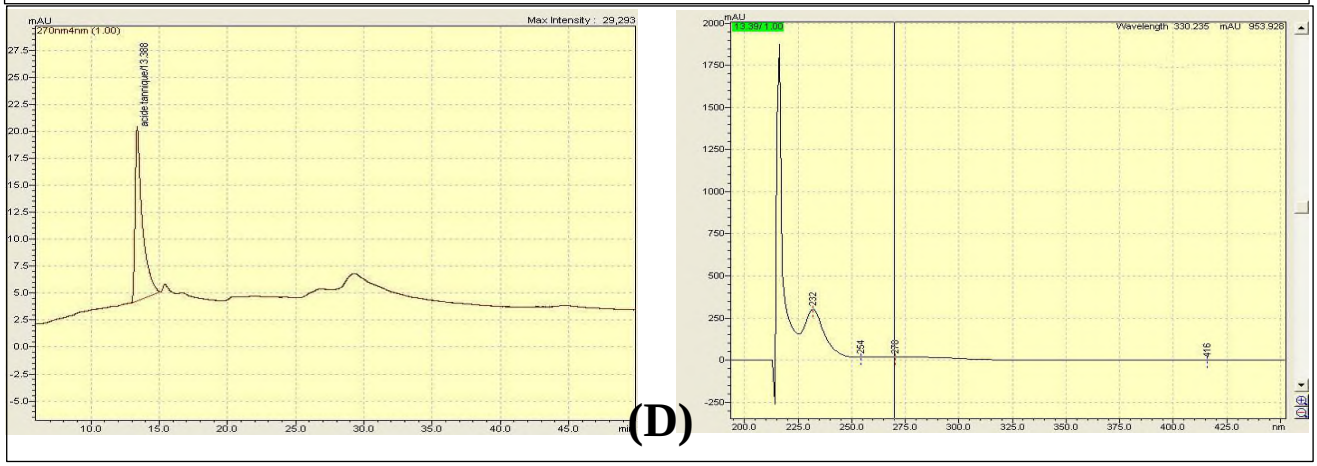
(A)



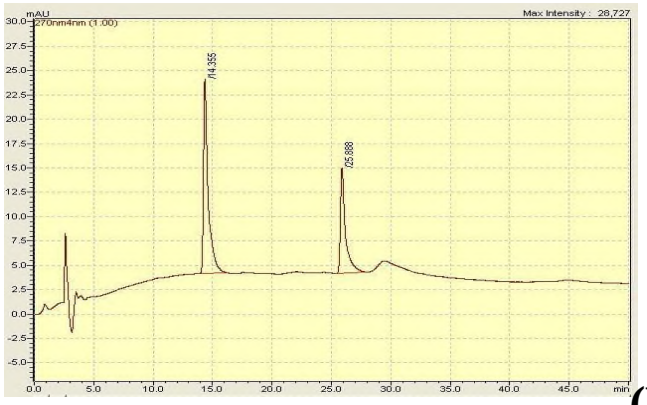
(B)

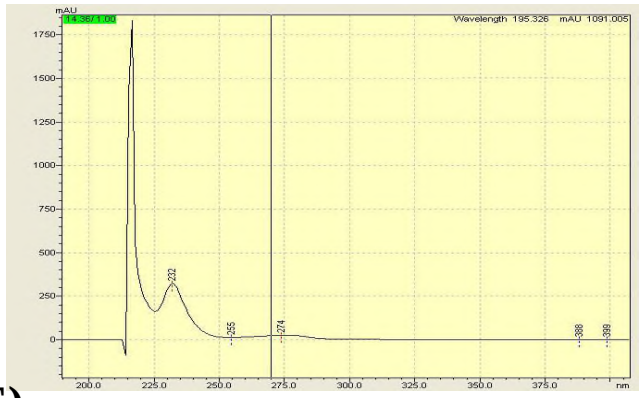


(C)

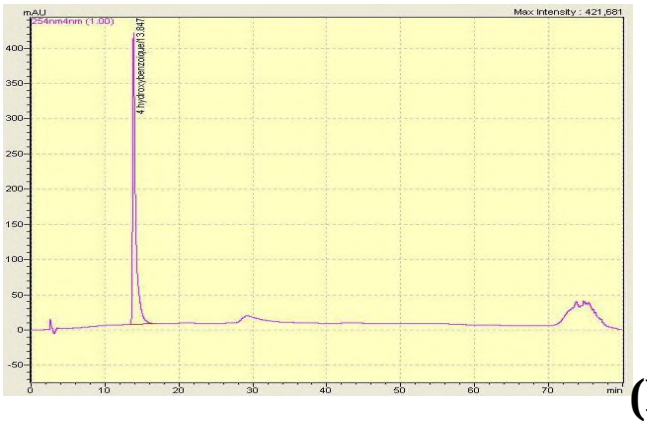


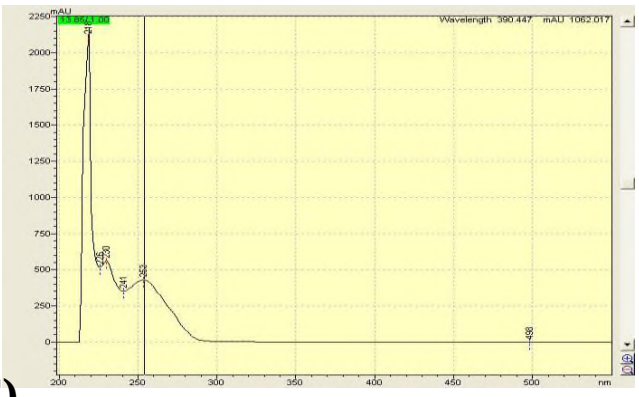
(D)


mAU
Max Intensity : 28,727
270nm4nm (1.00)
14.355
25.888
min

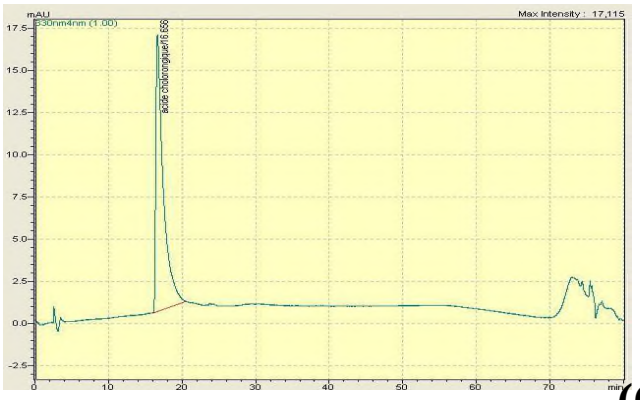

mAU
14.387 1.00
Wavelength 195.326 mAU 1091.005
232
255
274
388
399
nm

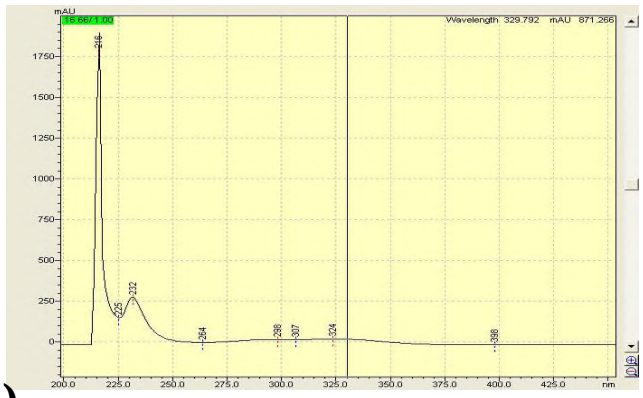
(E)


mAU
Max Intensity : 421,681
254nm4nm (1.00)
4-hydroxybenzoique 13.947
min

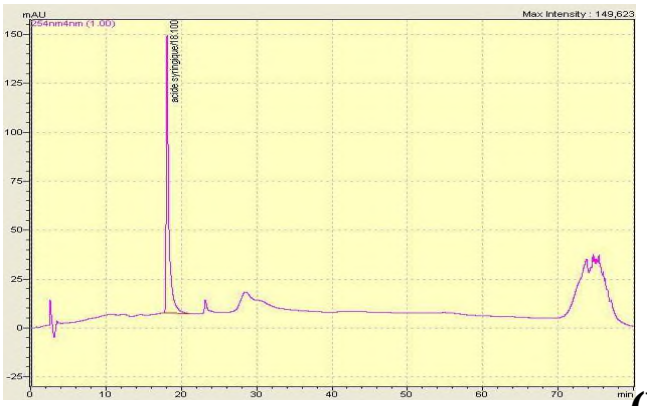

mAU
13.964 1.00
Wavelength 390.447 mAU 1062.017
205
230
241
253
468
nm

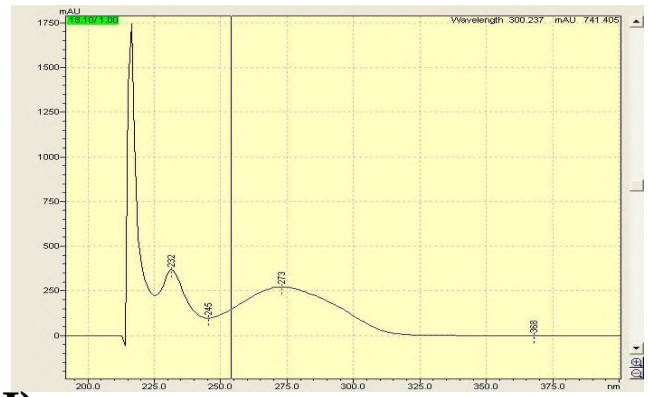
(F)


mAU
Max Intensity : 17,115
330nm4nm (1.00)
acide chlorogenique 16.659
min

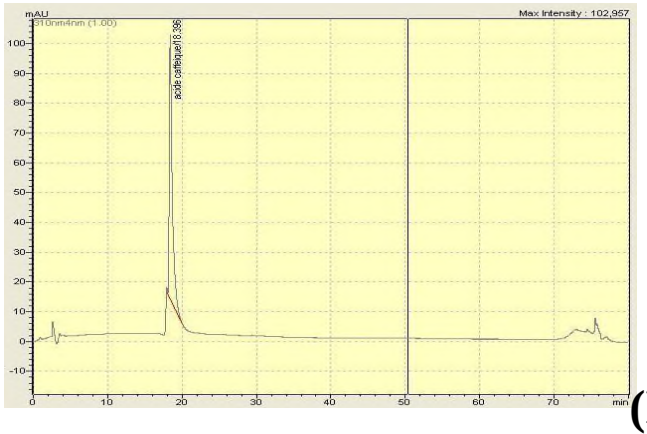

mAU
16.667 1.00
Wavelength 329.792 mAU 871.266
246
225
232
264
288
307
324
398
nm

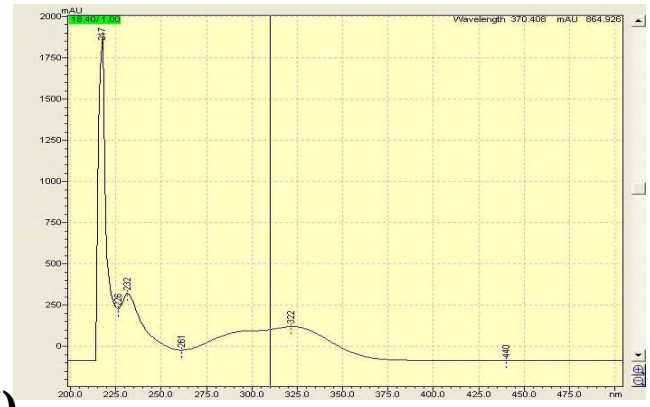
(G)


mAU
Max Intensity : 149,623
254nm4nm (1.00)
acide syringique 16.100
min

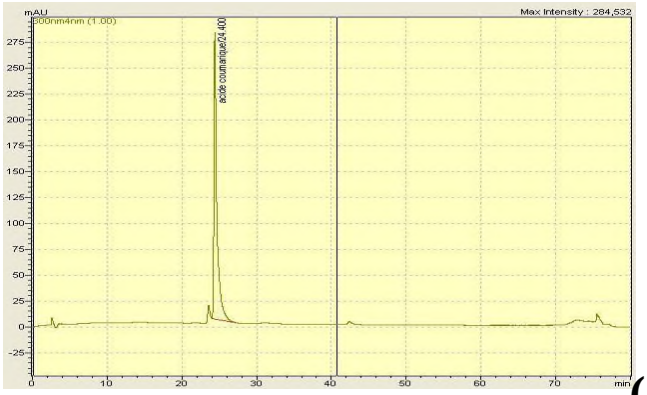

mAU
16.107 1.00
Wavelength 300.237 mAU 741.405
232
245
273
368
nm

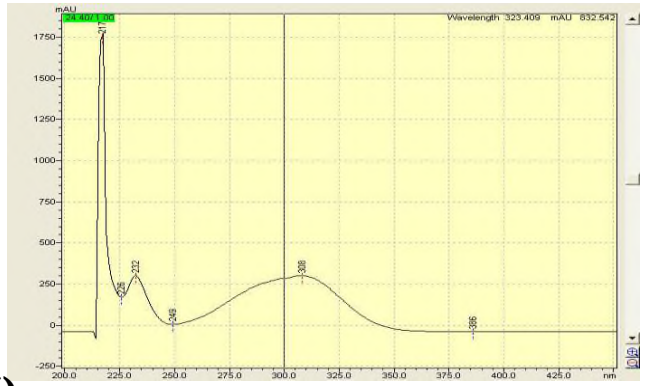
(H)


mAU
Max Intensity : 102,957
310nm4nm (1.00)
acide caféique/18,386
min

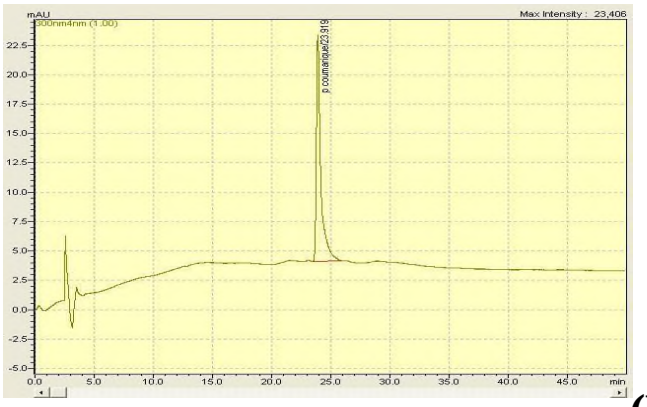

mAU
Wavelength 370.408 mAU 864.926
347
325
322
261
440
nm

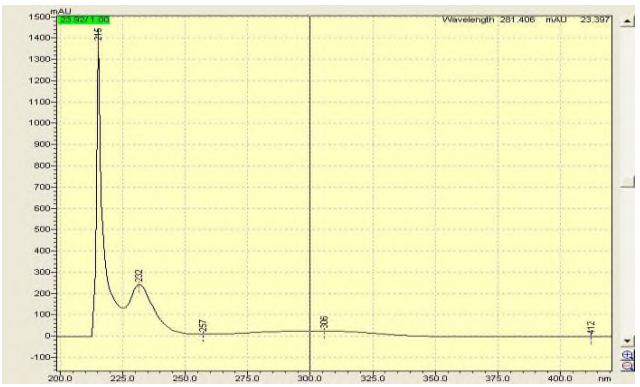
(I)


mAU
Max Intensity : 284,532
300nm4nm (1.00)
acide coumarique/24,400
min

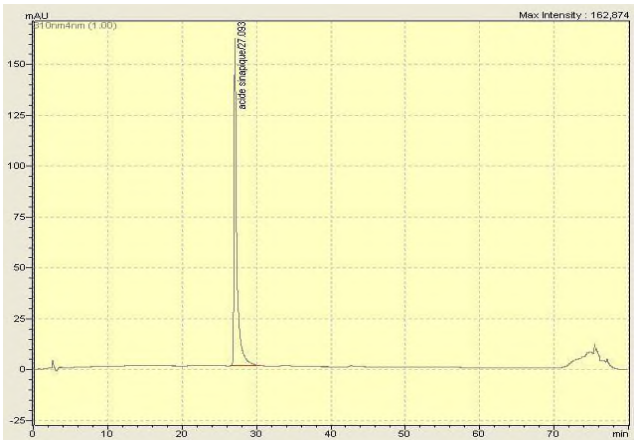

mAU
Wavelength 323.409 mAU 832.542
317
325
322
346
388
386
nm

(J)


mAU
Max Intensity : 23,406
300nm4nm (1.00)
p coumarique/23,918
min


mAU
Wavelength 281.406 mAU 23.397
345
322
257
305
412
nm

(K)


mAU
Max Intensity : 162,874
310nm4nm (1.00)
acide sinapique/27,093
min


mAU
Wavelength 345.751 mAU 1093.365
320
322
282
443
nm

(L)

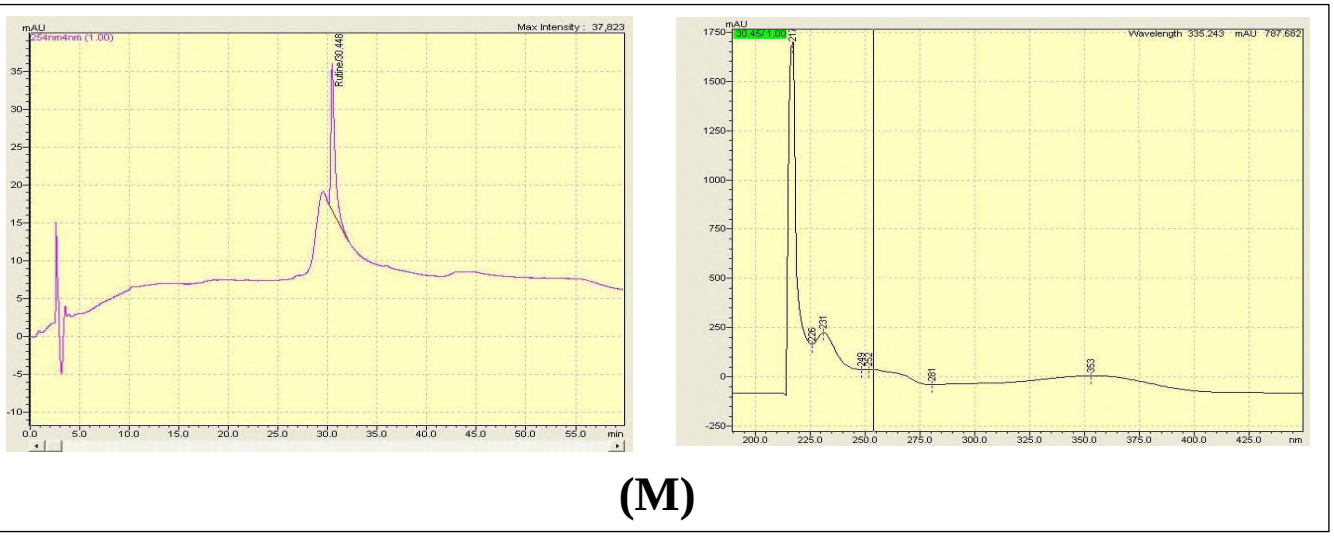


Figure 43: Chromatogrammes d'analyse des standards par HPLC-DAD et leurs spectres d'absorption

(A= acide gallique, B = trans-chalcon, C = 3,4 hydroxycinnamique, D = acide tannique, E = 4HPAA, F = acide 4, hydroxybenzoique, G = acide chlorogénique, H = acide syringique, I = acide caféique, J = acide coumarique, K = acide p-coumarique, L = acide sinapique, M = Rutine.

2. Dosages des polyphénols et flavonoïdes des différents extraits des mixtures par HPLC-DAD

Pour M1 : l'extrait hydroéthanolique de M1 a montré la présence d'acide gallique, chlorogénique, syringique, coumarique, sinapique, 4-Hydroxyphenylacetaldehyde, 3,4 hydroxycinnamique et la rutine. Alors que, l'extrait d'acétate d'éthyle de M1 a montré la présence d'acide gallique, 3,4 hydroxycinnamique, 4, hydroxybenzoïque, coumarique, sinapique, la rutine et la quercétine. Tandis que, les deux extraits de M1 ont présenté l'absence des molécules suivant : acide caféique, p-coumarique, tannique et vanilline.

Les chromatogrammes (Figure 43) ont montré les molécules identifiées dans les différents extraits analysés de M1.

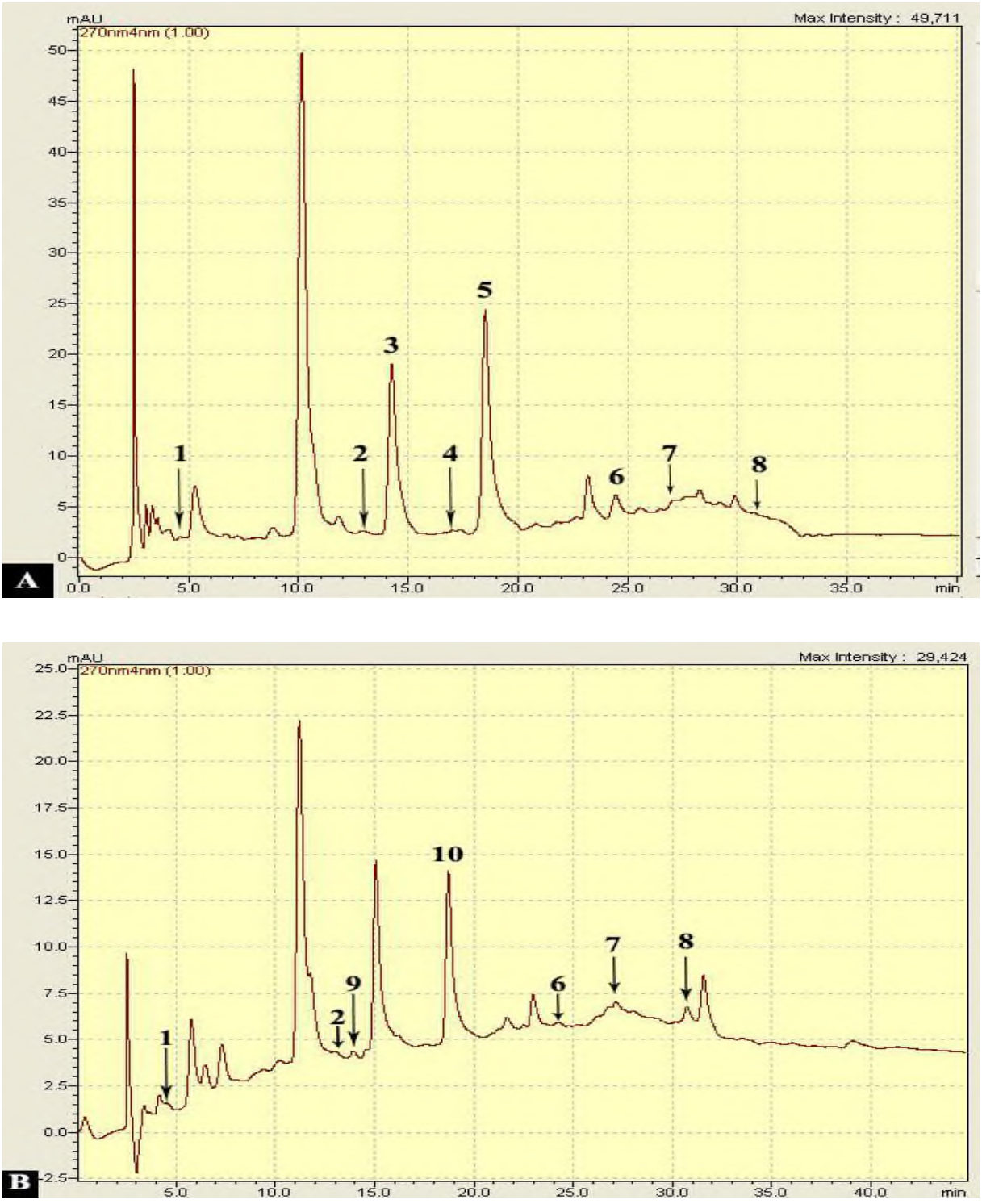


Figure 44: Chromatogramme des composés chimiques de M1 détectés par HPLC-DAD

A : Extrait hydroéthanolique, B : extrait d'acétate d'éthyle, 1 : acide gallique, 2 : acide 3,4 hydroxycinnamique, 3 : 4-Hydroxyphenylacetaldehyde, 4 : acide chlorogénique, 5 : acide syringique, 6 : acide coumarique, 7 : acide sinapique, 8 : rutine, 9 : acide 4, hydroxybenzoique, 10 : quercétine.

Le Tableau 18 a illustré les temps des rétentions des composés chimique de M1 identifiés en comparaison avec les standards

Tableau 18: Composés chimiques identifiés dans les différents extraits de M1

Pic	TR (min)	Molécule	DO	Extrait d'acétate d'éthyle	Extrait hydroéthanolique
1	4,60 ± 0,5	Acide gallique	270	+	+
2	12,93 ± 0,5	3,4 hydroxycinnamique	270	+	+
3	14,23 ± 0,5	4 HPAA	270	+	+
4	16,61 ± 0,5	Acide chlorogénique	270	+	+
5	18,50 ± 0,5	Acide syringique	270	+	+
6	24,54 ± 0,5	Acide coumarique	270	+	+
7	27,08 ± 0,5	Acide sinapique	270	+	+
8	30,76 ± 0,5	Rutine	270	+	+
9	13,93 ± 0,5	4, hydroxybenzoique	270	+	-
10	18,70 ± 0,5	Quercétine	270	+	-

TR : temps de rétention, DO : densité optique, (+) : présent, (-) : absent

Pour M2 : l'extrait hydroéthanolique de M1 a montré la présence d'acide gallique, acide tannique, acide chlorogénique, quercétine, acide p-coumarique et acide sinapique. Alors que, l'extrait d'acétate d'éthyle de M2 a montré la présence d'acide gallique, acide tannique, acide chlorogénique, Quercétine, acide p-coumarique, acide sinapique et acide 3,4 hydroxycinnamique. Tandis que, les deux extraits de M2 ont présenté l'absence des molécules suivant : acide caféique, acide coumarique et vanilline.

Les chromatogrammes (Figure 44) ont montré les molécules identifiées dans les différents extraits analysés de M2.

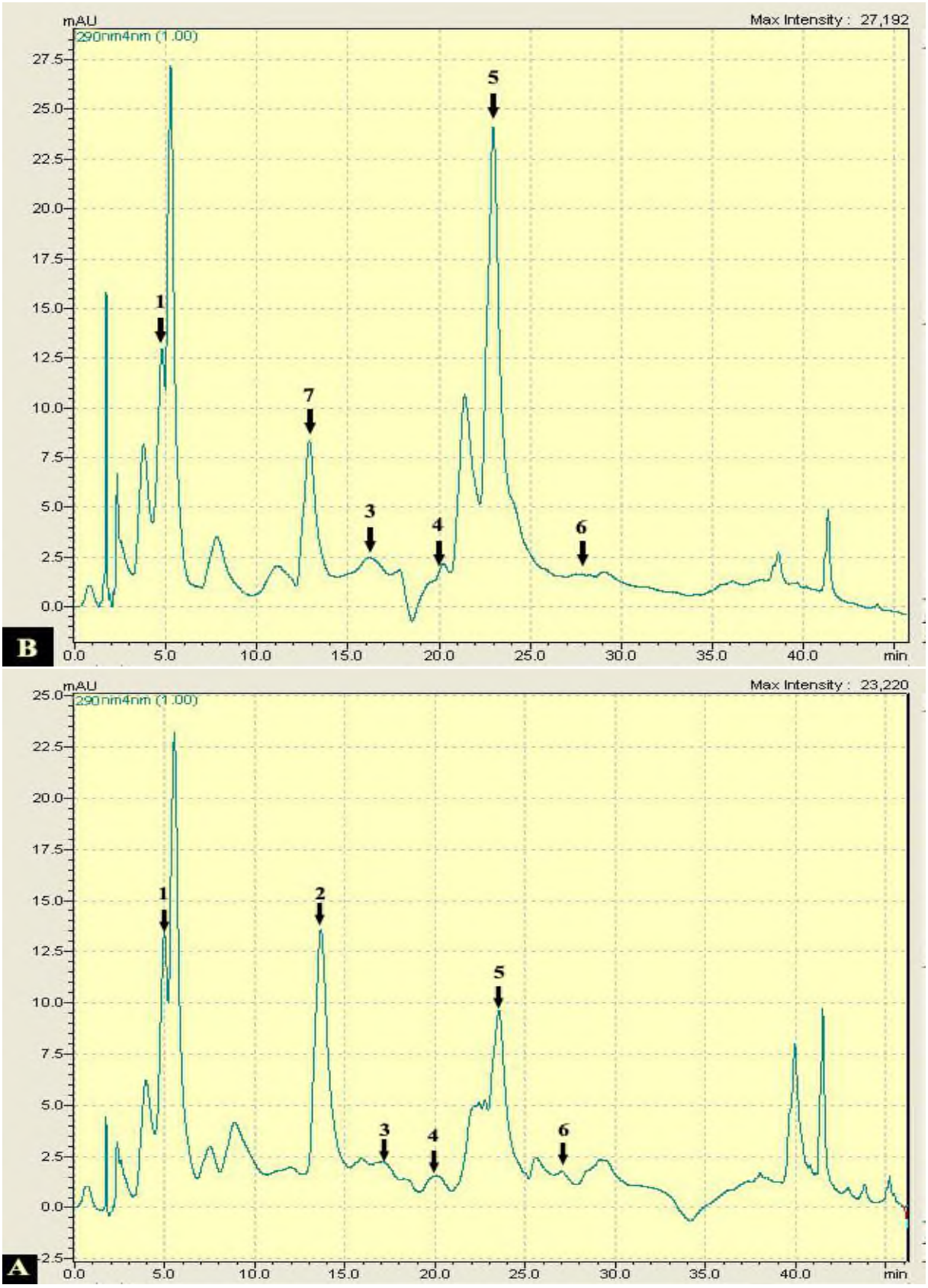


Figure 45: Chromatogramme des composés chimiques de M2 détectés par HPLC-DAD

A : Extrait hydroéthanolique, B : extrait d'acétate d'éthyle, 1 : acide gallique, 2 : acide tannique, 3 : acide chlorogénique, 4 : Quercétine, 5 : acide p-coumarique, 6 : acide sinapique, 7 : 3,4 hydroxycinnamique.

Le Tableau 19 a illustré les temps des rétentions des composés identifiés dans M2 en comparaison avec les standards.

Tableau 19: Composés chimiques identifiés dans les différents extraits de M2

Pic	TR (min)	Molécule	DO	Extrait d'acétate d'éthyle	Extrait hydroéthanolique
1	4,96 ± 0,5	Acide gallique	270	+	+
2	13,64 ± 0,5	Acide tannique	270	+	+
3	16,65 ± 0,5	Acide chlorogénique	270	+	-
4	19,79 ± 0,5	Quercétine	270	-	+
5	23,51 ± 0,5	Acide p-coumarique	270	-	+
6	27,01 ± 0,5	Acide sinapique	270	-	+
7	12,87 ± 0,5	3,4 hydroxycinnamique.	270	+	-

TR : temps de rétention, DO : densité optique, (+) : présent, (-) : absent

Les analyses des différents extraits de chaque mixture ont été réalisées dans le but d'une meilleure identification de leurs composés. La présence des acides galliques et chlorogéniques a été confirmée dans un extrait de *rosmarinus officinalis* selon les études de (Herrero et al., 2010), alors que les travaux de Radulescu et al., (2017) et Nitzche et al. (2004) ont identifié l'acide gallique, chlorogénique, syringique, sinapique et cinnamique dans un extrait de *lavandula officinalis* (Radulescu et al., 2017; Nitzsche et al., 2004). Le criblage phytochimique par chromatographie (HPLC) a affirmé la présence de la rutine et la quercétine dans le *rosmarinus officinalis* et *petroselinum crispum* (Verma et al., 2013; Sofic et al., 2010), tandis que, les études de Mouduras et al. (2019) ont identifié la quercetine et l'acide sinapique dans les extraits de *Ammodaucus leucotrichus* (Mouderas et al., 2019).

Chapitre III : évaluation de la toxicité aiguë et subaiguë des mixtures utilisées dans le traitement traditionnel des maladies rénales

I. Evaluation de la toxicité aiguë

1. Signes de toxicité et poids corporel

Pour M1 : Les principaux changements du comportement de l'animal observés, après l'administration de M1 à 2 000, 6000 mg / kg et 10 ml/kg de poids corporel sont principalement l'agitation et l'enflure autour des yeux.

Aucune mortalité n'a été rapportée pendant les 14 jours d'administration aiguë. Aucune diminution statistiquement significative du poids corporel n'a été observée pour les cinq doses administrées (Figure 45).

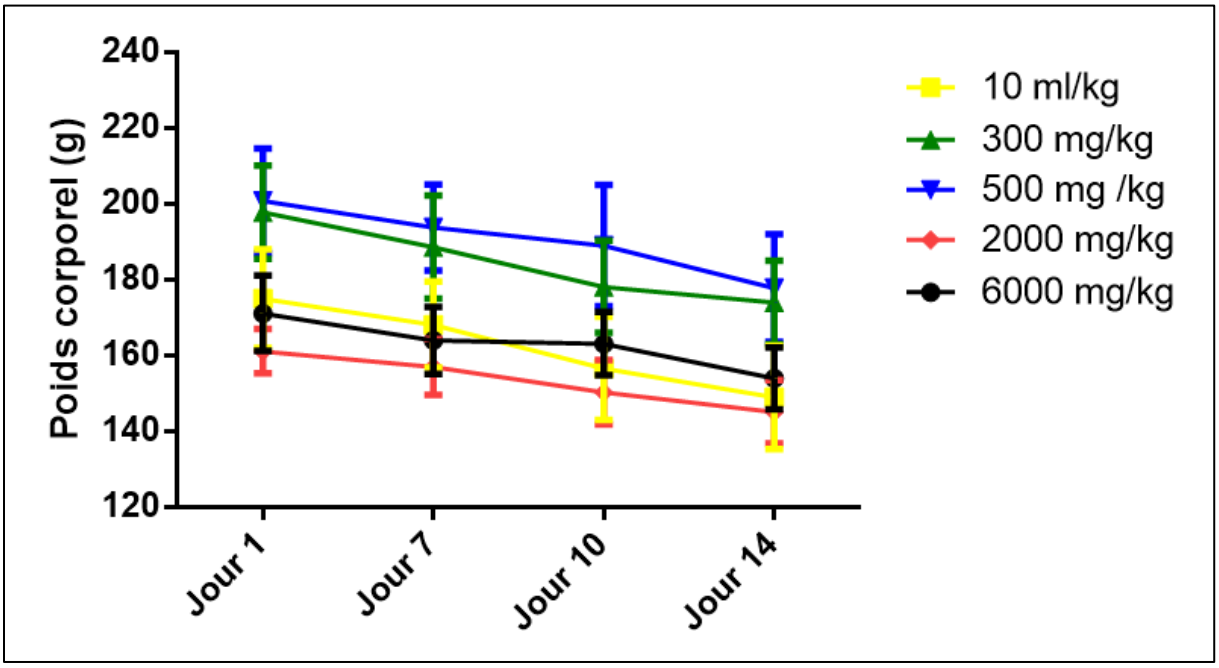


Figure 46: Effets de l'administration aiguë de l'extrait aqueux de M1 sur le poids corporel des rats après 14 jours de traitement.

Pour M2 : L'étude de toxicité aiguë par voie orale a montré une diarrhée après 2 heures et une somnolence après 3 heures après l'administration aiguë de dose de 2000 mg/kg, 6000 mg/kg et 10 ml/kg de poids corporel. Les rats étaient agités après 24 heures à toutes les doses étudiées. Aucun cas de mortalité, de constipation, d'œdème, de tremblement, ni de convulsions n'ont été observée (Tableau 20).

Tableau 20: Résultats de l'observation des animaux pendant les premières 24 heures et chaque jour pendant 14 jours après l'administration orale de l'extrait aqueux du M2

	Signes cliniques de toxicité							
	Diarrhée	Constipation	Agitation	Œdème	Tumeur	Convulsion	Somnolence	Décès
Contrôle	-	-	-	-	-	-	-	-
300 mg/kg	-		+ **	-	-	-	-	-
500 mg/kg	-	-	+ **	-	-	-	-	-
2000 mg/kg	+ *	-	+ **	-	-	-	+ ***	-
6000 mg/kg	+ *	-	+ **	-	-	-	+ ***	-
10 ml/kg	+ *	-	+ **	-	-	-	+ ***	-

(-) : absent, (+) : présent, * : après 2 heures, ** : après 24 heures, *** : après 3 heures

Aucune diminution statistiquement significative du poids corporel n'a été observée au cours des 14 jours après l'administration de toutes les doses étudiées de M2 (Tableau 21).

Tableau 21: Effets de l'administration aiguë de l'extrait aqueux de M2 sur le poids corporel des rats après 14 jours de traitement.

	300 mg/kg	500 mg/kg	2000 mg/kg	6000 mg/kg	10 ml/kg
Jour 1	162.4 ± 7.2	155 ± 9.7	171 ± 7.6	161.6 ± 16.9	159. ± 10.8
Jour 7	159.6 ± 6.7	154.2 ± 12.2	165 ± 8.9	151.4 ± 13.7	158 ± 8.9
Jour 10	158.6 ± 7.2	151.6 ± 11.8	164.4 ± 10.1	151.6 ± 14	143 ± 8.4
Jour 14	154 ± 10.1	150.8 ± 10.2	158.2 ± 10.8	146.4 ± 13.1	139.6 ± 9.5
Significativité	Non significatif	Non significatif	Non significatif	Non significatif	Non significatif

Le poids corporel et le comportement général sont les premiers paramètres pour l'évaluation de la toxicité (Sireeratawong et al., 2008). Dans notre étude, malgré la diminution du poids corporel, il n'y a pas eu de changement comportemental ou neurologique important en dehors de l'agitation chez les rats ayant reçu l'extrait aqueux de M1 à toutes les doses étudiées. Leur poids corporel n'a pas présenté de modification significative.

Les résultats de l'étude de toxicité aiguë par voie orale de M2 ont rapporté une diarrhée après 2 h et une somnolence après 3 h suite à l'administration aiguë des doses 2000 mg/kg, 6000 mg/kg et 10 ml/kg. Les rats étaient agités après 24 h pour toutes les doses étudiées. La présence de signes comme la diarrhée et l'agitation peut s'expliquer par une sensibilité aux substances, dont le risque de toxicité est présent. En ce qui concerne le poids corporel, la diminution du poids corporel peut s'expliquer par une diminution du poids des organes internes due à une exposition à des substances

toxiques (Hayelom et al., 2012; Ouédraogoa et al., 2012). Notre étude a conclu qu'il n'y a pas une diminution statistiquement significative du poids corporel de tous les groupes de rats.

D'autre part, une étude menée dans l'est de l'Afrique a révélé une toxicité de *Rosmarinus officinalis*, provoquée par certains changements comportementaux tels que convulsions, spasmes, pilo-érection, ataxie, vertiges, augmentation de la fréquence cardiaque, perte d'appétit et insuffisance respiratoire (Nakavuma et al., 2016).

2. Effet de l'extrait aqueux de mixture sur le poids relatif des organes

Après les 14 jours de l'administration, chaque rat a été sacrifié, le foie, les reins et la rate ont été immédiatement extraits, et leurs poids ont été pris pour calculer le poids relatif des organes.

Pour M1 : Les reins et le foie présentaient une diminution statistiquement significative chez les groupes traités par rapport au groupe témoin, tandis que la rate présentait une augmentation de poids statistiquement significative (Figure 46).

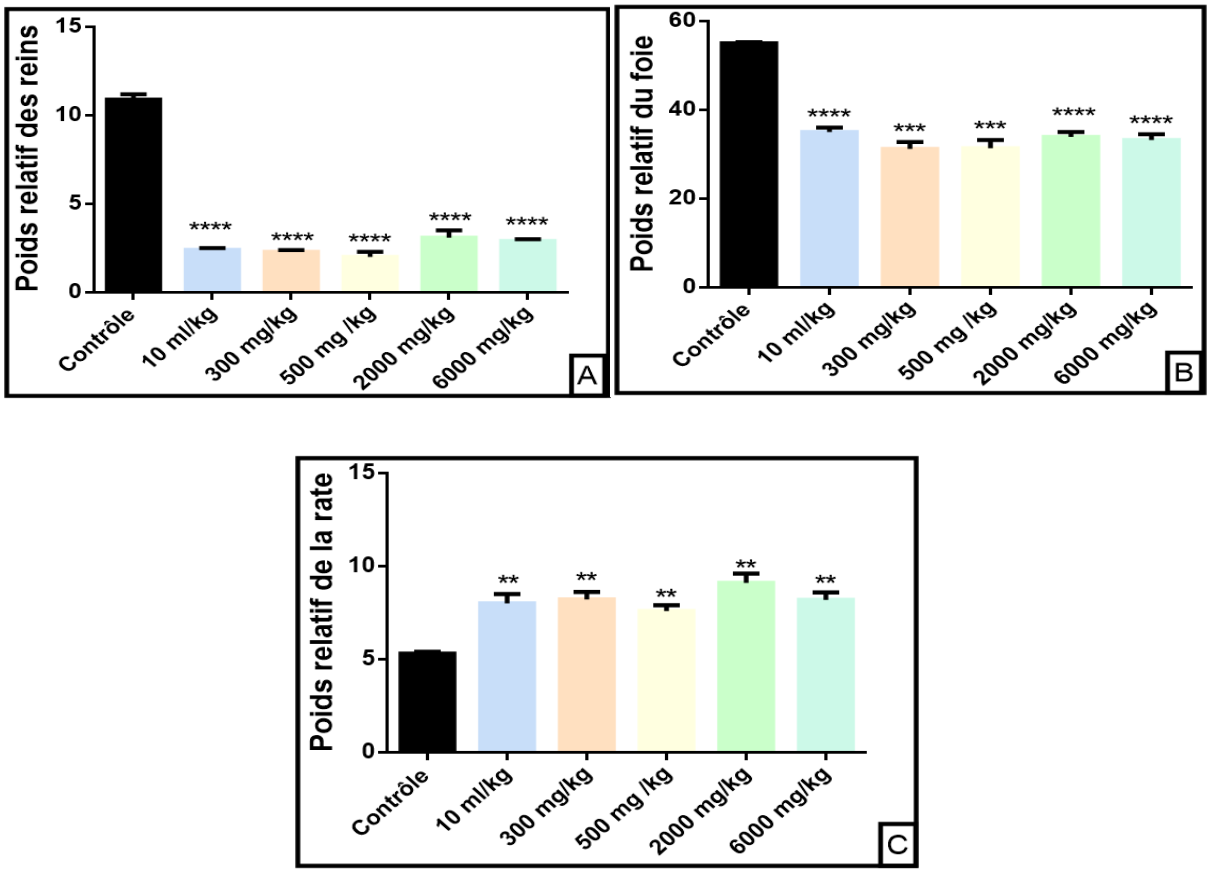


Figure 47: Poids relatifs des organes des reins (A), du foie (B) et de la rate (C) des rats après 14 jours de traitement avec l'extrait aqueux de M1

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM. Les comparaisons sont analysées par le test de Student.

** p <0,01, *** p <0,001, **** p <0,0001, n = 3 pour chaque groupe

Pour M2 : les poids relatifs des reins, du foie et de la rate ont montré une diminution statistiquement significative par rapport au groupe de contrôle (Figure 47).

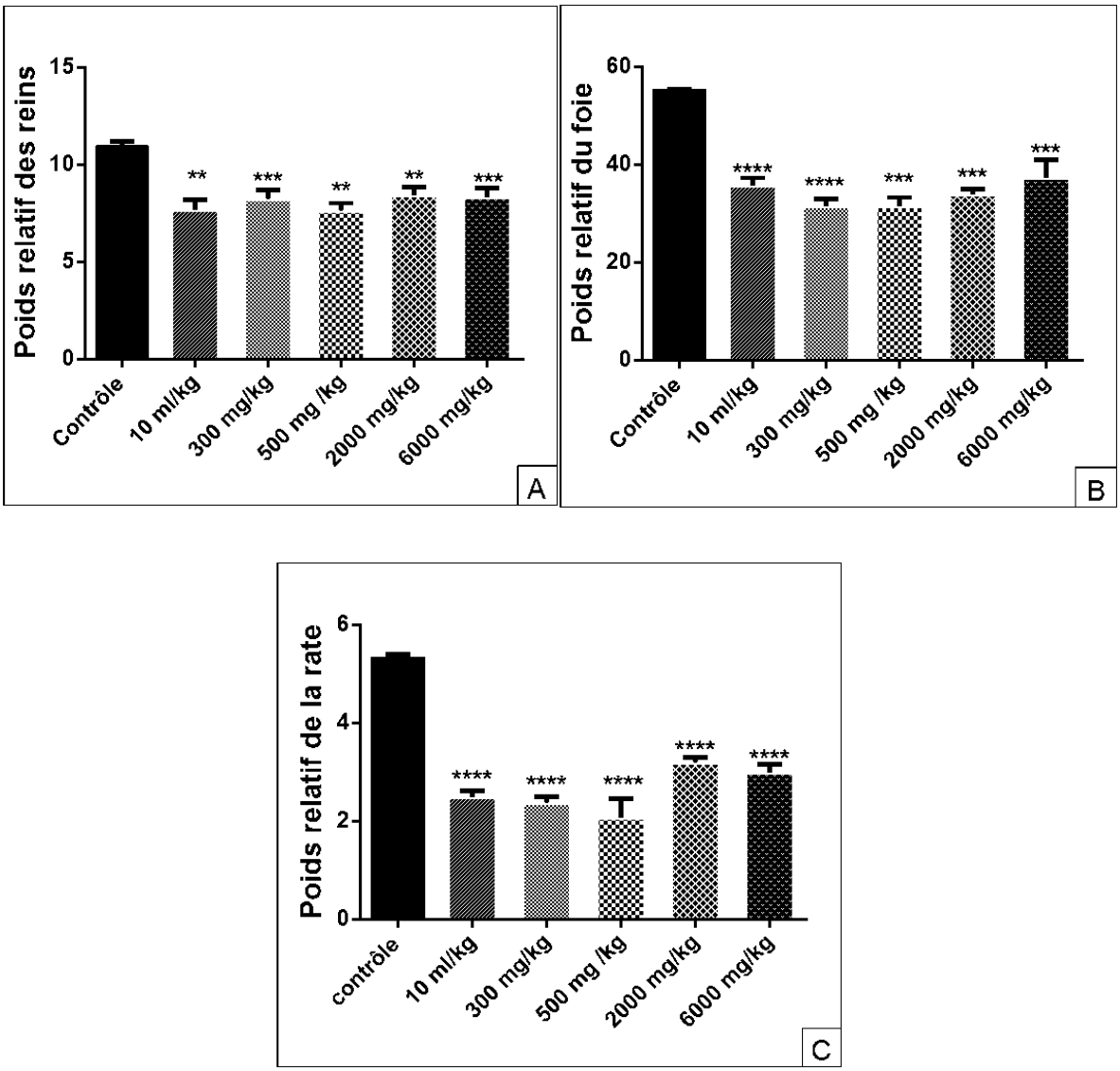


Figure 48: Poids relatifs des organes des reins (A), du foie (B) et de la rate (C) des rats après 14 jours de traitement avec l'extrait aqueux de M2

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM. Les comparaisons sont analysées par le test de Student.

** p <0,01, *** p <0,001, **** p <0,0001, n = 3 pour chaque groupe

Les modifications du poids des organes internes ont été considérées comme un indicateur d'exposition aux substances toxiques ou chimiques (Michael et al., 2007). De plus, l'exposition à une substance toxique peut entraîner une réduction du poids de l'organe interne (TM et al., 2002).

Durant notre étude, l'administration orale d'extrait aqueux des mixtures a entraîné une diminution significative du poids relatif du foie et des reins, suggérant un risque de toxicité aiguë.

3. Effet des mixtures (M1 et M2) sur les paramètres biochimiques

Pour M1 : Le taux d'alanine aminotransférase (ALT), d'Aspartate aminotransférase (AST), de protéines totales, de créatinine, d'urée, d'acide urique, de cholestérol HDL et de ferritine ont augmenté de manière significative dans les groupes des rats ayant reçu les différentes doses par rapport au groupe témoin. Considérant que, les niveaux de phosphatase alcaline, de phosphore, de magnésium et de triglycérides ont montré une diminution statistiquement significative. Il n'y avait aucun changement significatif dans la bilirubine totale, la bilirubine directe, la gamma-glutamyltransférase (GGT), le cholestérol total et le fer sérique (Tableau 22).

Tableau 22: Effet de l'extrait aqueux de M1 sur les paramètres biochimiques des rats.

	Contrôle	10 ml/kg	300 mg/kg	500 mg/kg	2000 mg/kg	6000 mg/kg
Profil hépatique						
ALAT (U/l)	61,00±5,00	101,50±7,50*	77,00±5,50^{NS}	91,00±1,00**	101,50±8,50*	132,50±5,00***
ASAT (U/l)	211,50±2,50	626,50±52,50**	506,50±50,50**	666,50±30,50***	690,00±41,00***	1046,00±80,00***
Protéines totales (g/l)	45,50±2,4	58,33±1,20**	46,50±0,50^{NS}	55±4.00^{NS}	60,50±4,50*	58±2,00*
Bilirubine totale (mg/l)	1,00±00,00	1,00±00,00^{NS}	1,33±0,33^{NS}	2,33±0,66^{NS}	2,66±0,66^{NS}	1,33±0,33^{NS}
Bilirubine directe (mg/l)	1,00±00,00	1,66±0,33^{NS}	1,33±0,33^{NS}	1,00±00,00^{NS}	1,00±00,00^{NS}	1,00±00,00^{NS}
Phosphatases alcalines (U/l)	412,00±29,00	195,50±17,50**	212,50±20,50**	235,50±22,50**	239±21,50**	151,00±14,00**
GGT (U/l)	4,00±00,00	4,00±00,00^{NS}	4,33±0,33^{NS}	4,66±0,33^{NS}	4,66±0,33^{NS}	4,00±00,00^{NS}
Profil rénal						
Créatinine (mg/l)	3,66±0,33	5±00*	4,33±0,33^{NS}	4,33±0,33^{NS}	4,66±0,33^{NS}	5,66±0,33*
Urée (g/l)	0,33±0,01	0,60±0,01**	0,35±0,03^{NS}	0,62±0,06**	0,65±0,02**	0,60±0,03**
Acide urique (mg/l)	13,50±1,20	25,00±2,08**	21,33±2,02*	25,00±2,00**	29,33±1,66**	29,00±1,53**
Profil lipidique						
Cholestérol total (g/l)	0,59±0,05	0,56±0,02^{NS}	0,56±0,02^{NS}	0,67±0,04^{NS}	0,69±0,03^{NS}	0,58±0,04^{NS}
Cholestérol - HDL(g/l)	0,21±0,02	0,27±0,005*	0,22±0,02^{NS}	0,27±0,02^{NS}	0,22±0,01^{NS}	0,28±0,002*
Triglycérides (g/l)	0,73±0,07	0,35±0,01**	0,33±0,03**	0,33±0,02**	0,33±0,01***	0,34±0,01**

Électrolytes						
Magnésium (mg/l)	33,50±1,50	24,69±0,99**	24,49±2,01*	24,13±0,82**	27,11±0,32*	30,05±2,26^{NS}
Phosphores (mg/l)	140,00±7,00	72,50±1,50***	62,50±2,50***	60,00±0,57***	88,00±7,00**	48,50±6,50***
Ferritine (ng/l)	15,00±0,57	27,10±1,40**	28,15±2,15**	18,60±0,90*	24,65±1,05**	23,25±1,55**
Fer sérique (µg/l)	1,64±0,10	1,99±0,33^{NS}	1,69±0,11^{NS}	2,12±0,16^{NS}	1,93±0,18^{NS}	2,09±0,18^{NS}

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM, n = 3; ASAT: Aspartate aminotransférase; ALAT: Alanine aminotransférase; GGT: Gamma-glutamyltranspeptidase; NS: non significatif; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001; ****p<0.0001.

Pour M2 : Il y avait une augmentation statistiquement significative d'ASAT, de créatinine, d'urée et d'acide urique chez les groupes des rats recevant les différentes doses étudiées par rapport au groupe témoin. Alors que l'ALAT, la phosphatase alcaline, les triglycérides, le magnésium et le phosphore ont présenté une diminution statistiquement significative. En outre, la ferritine et le fer sérique ont été augmentés à la dose de 10 ml/kg uniquement.

Il n'y avait pas de changement significatif dans la protéine totale, la bilirubine totale, la bilirubine directe, la gamma glutamyltransférase (GGT), le cholestérol total et le cholestérol HDL (Tableau 23).

Tableau 23: Effet de l'extrait aqueux de M2 sur les paramètres biochimiques des rats.

	Contrôle	10 ml/kg	300 mg/kg	500 mg/kg	2000 mg/kg	6000 mg/kg
Profil hépatique						
ALAT (U/l)	61,00±5,00	43,50±1,35*	44,00±2,10*	45,00±2,00*	44,00±2,62*	42,00±3,70*
ASAT (U/l)	211,50±2,50	315,00±7,00***	243,00±8,00*	265,50±16,50*	417,50±17,50***	311,00±11,00***
Protéines totales (g/l)	45,50±2,4	48,50±1,50^{NS}	46,50±2,50^{NS}	52±1,00^{NS}	50,50±1,50^{NS}	51,50±1,50^{NS}
Bilirubine totale (mg/l)	1,00±00,00	1,00±00,00^{NS}	1,00±00,00^{NS}	1,00±00,00^{NS}	1,00±00,00^{NS}	1,00±00,00^{NS}
Bilirubine directe (mg/l)	1,00±00,00	2,00±0,00^{NS}	1,50±0,50^{NS}	1,00±00,00^{NS}	1,00±00,00^{NS}	1,00±0,00^{NS}
Phosphatases alcalines (U/l)	412,00±29,00	225,00±10,00**	237,00±13,50***	257,00±8,00***	274,00±19,00**	268,00±3,00***
GGT (U/l)	4,00±00,00	4,00±00,00^{NS}	4,00±00,00^{NS}	4,00±00,00^{NS}	4,00±00,00^{NS}	4,00±00,00^{NS}
Profil rénal						

Créatinine (mg/l)	3,66±0,33	5,66±0,33*	4,98±0.08*	5,68±0.11**	5,10±0,17*	5,72±0,10**
Urée (g/l)	0,33±0,01	0,42±0,02*	0,38±0,01*	0,44±0,03*	0,61±0,02***	0,42±0,02*
Acide urique (mg/l)	13,50±1,20	21,00±1,00**	19,50±1,00*	20,00±1,52*	21,00±1,5*	26,00±2,05**
Profil lipidique						
Cholestérol total (g/l)	0,59±0,05	0,55±0,04^{NS}	0,47±0,005^{NS}	0,48±0,04^{NS}	0,50±0,02^{NS}	0,54±0,01^{NS}
Cholestérol - HDL(g/l)	0,21±0,02	0,22±0,005^{NS}	0,17±0,01^{NS}	0,21±0,01^{NS}	0,19±0,01^{NS}	0,22±00,01^{NS}
Triglycérides (g/l)	0,73±0,07	0,26±0,01**	0,27±0,01**	0,19±0,01**	0,24±0,01**	0,16±0,01**
Électrolytes						
Magnésium (mg/l)	33,50±1,50	21,10±1,31*	20,22±0,64**	21,29±0,75**	20,42±0,75**	20,10±0,02**
Phosphores (mg/l)	140,00±7,00	40,00±3,00***	40,00±3,00***	53,33±3,33***	58,00±3,00***	48,00±2,00***
Ferritine (ng/l)	15,00±0,57	26,25±2,45*	12,75±1,15^{NS}	10,70±1,00^{NS}	16,00±1,30^{NS}	16,05±0 ,65^{NS}
Fer sérique (µg/l)	1,64±0,10	2,42±0,14*	1,85±0,13^{NS}	1,77±0,15^{NS}	1,50±0,10^{NS}	1,96±0,12^{NS}

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM, n = 3; ASAT: Aspartate aminotransférase; ALAT: Alanine aminotransférase; GGT: Gamma-glutamyltranspeptidase; NS: non significatif; *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001; ****p<0.0001.

Pour des informations supplémentaires sur la toxicité non détectée par les paramètres précédents (poids corporel, comportement général, ROW), des paramètres biochimiques et hématologiques ont été étudiés.

Les troubles hépatiques ont également été évalués par des enzymes sériques telles que l'alanine aminotransférase (ALAT) et l'aspartate aminotransférase (ASAT). Les lésions hépatiques se traduisent par une augmentation de ces activités enzymatiques. Ainsi, les inflammations hépatocellulaires entraînent des augmentations du taux de transaminases (Hultcrantz et al., 1986; Fortson et al., 1985). De plus, les taux d'ASAT et d'ALAT obtenus dans notre étude ont montré une augmentation significative dans les groupes des rats traités par rapport au groupe témoin. La phosphatase alcaline (ALP) est une autre enzyme du foie qui transporte les métabolites à travers les membranes cellulaires. Les maladies du foie sont les causes les plus courantes d'élévation pathologique des taux de ALP (Giannini et al., 2005). Dans notre étude, il y avait une diminution significative de la phosphatase alcaline. Il y avait aussi une augmentation significative des protéines totales observées.

Plusieurs maladies du foie, telles que la jaunisse, l'érythropoïèse inefficace et la cholestase hépatique sont liées à la bilirubine (Thapa et al., 2007). En outre, l'administration aiguë de l' extrait aqueux de M1 et M2 n'a montré aucun changement statistiquement significative dans les niveaux de bilirubine (total et direct) dans tous les groupes traités par rapport au groupe témoin.

Dans le profil rénal, l'urée, l'acide urique et la créatinine sont considérés comme des marqueurs importants du dysfonctionnement rénal (Mukinda et al., 2010; Gnanamani et al., 2008). Les résultats de notre étude ont montré une augmentation statistiquement significative de l'acide urique après une administration aiguë de l'extrait aqueux de M1 et M2 à toutes les doses étudiées. De plus le taux d'urée a augmenté significativement chez les groupes des rats traités à des doses de 500 mg/kg, 2000 mg/kg, 6000 mg/kg et 10 ml/kg de M1. La créatinine a présenté une augmentation significative à des doses 6000 mg/kg et 10 ml/kg de M1. L'administration aiguë de l'extrait aqueux de M2 a montré une augmentation statistiquement significative dans le taux de créatinine et d'urée chez les rats traités à toutes les doses étudiées.

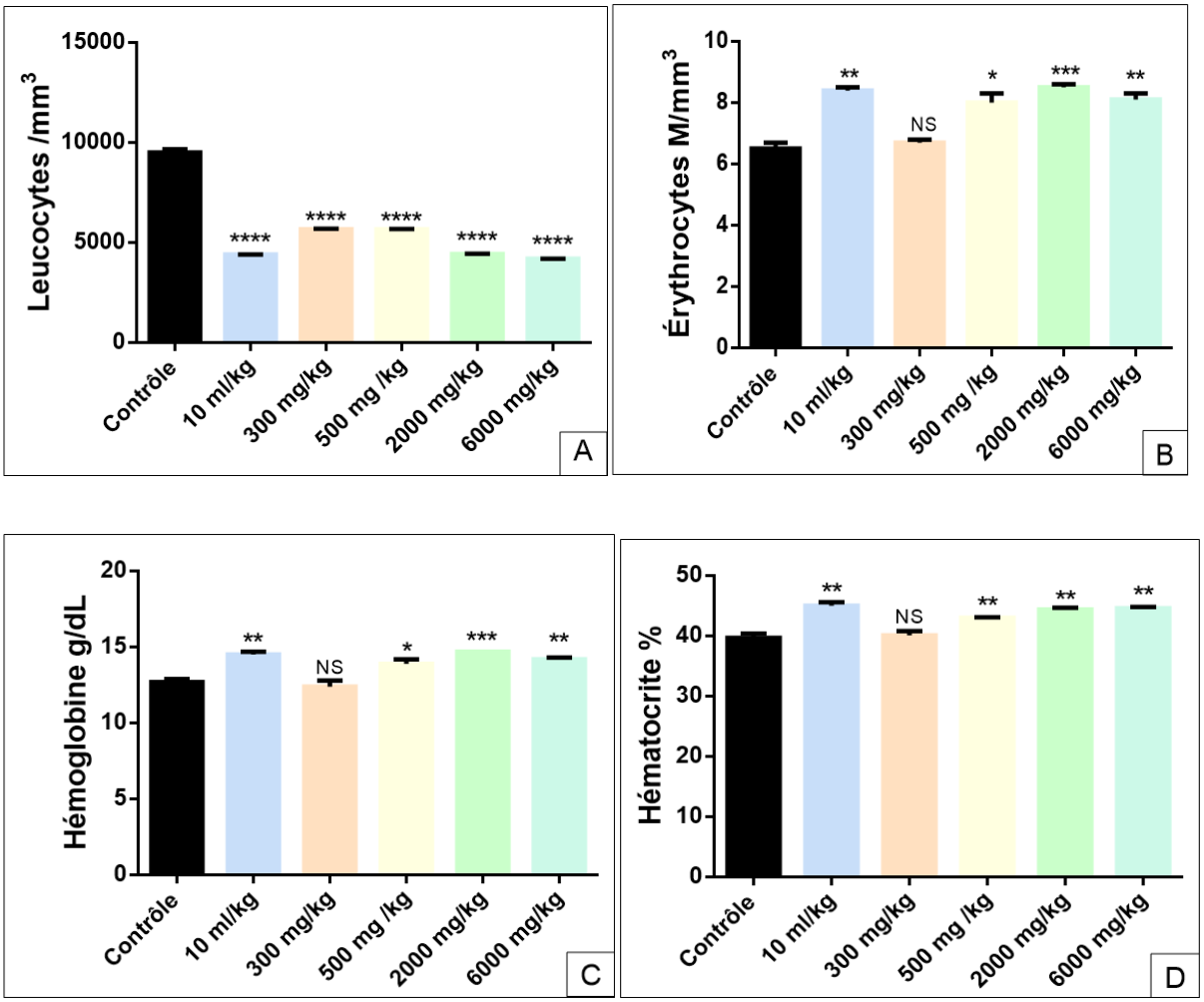
Dans le profil lipidique, les maladies cardiovasculaires sont liées aux taux élevés de cholestérol et de triglycérides dans le sang (Muntner et al., 2000; Mänttäri et al., 1995). Le taux de triglycérides était significativement réduit dans tous les groupes des rats traités par rapport au groupe témoin. Cependant, le taux de cholestérol-HDL a montré une augmentation significative à la dose de 6000 mg/kg et 10 ml/kg.

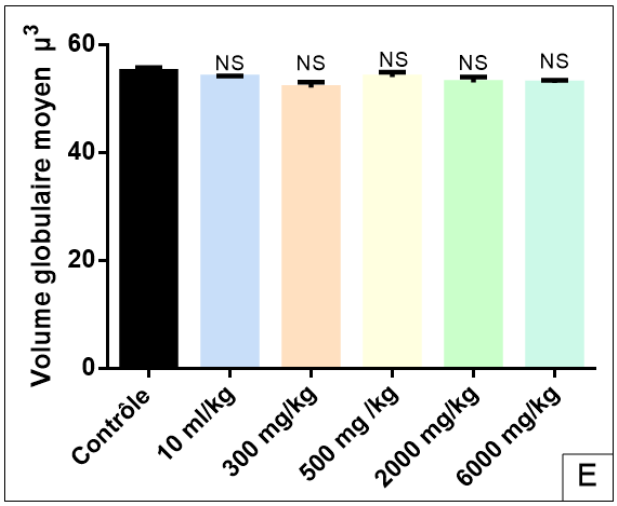
Dans les électrolytes, plusieurs maladies rénales sont associées à une diminution des électrolytes tels que le magnésium (Karie et al., 2010). Une étude a montré la relation entre l'hypophosphatémie et le tube rénal proximal affecté (Karie et al., 2010; Verhelst et al., 2002). Durant notre étude, l'administration aiguë d'extrait aqueux de M1 et M2 a présenté une diminution significative dans le taux de magnésium et de phosphore chez tous les groupes des rats traités par rapport au groupe témoin. La ferritine qu'est une protéine de la réaction inflammatoire dont la production augmente lors de l'activation des macrophages. L'hyperferritinémie pourrait résulter d'une érythrophagocytose, d'une inflammation systémique et d'un dysfonctionnement hépatique (Karras et al., 2002). Dans notre étude, il y avait une augmentation significative du taux de ferritine dans tous les groupes des rats traités aux différentes doses en comparaison au groupe témoin.

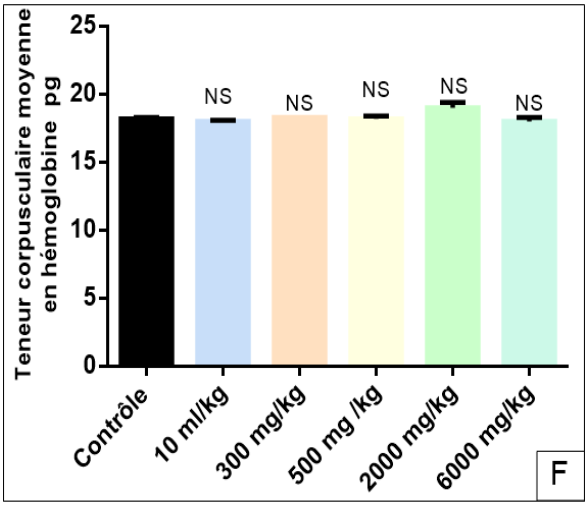
4. Effet de l'extrait aqueux de mixture sur les paramètres hématologiques

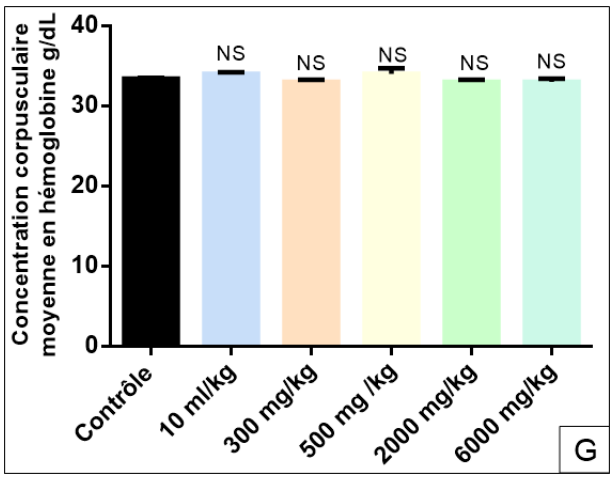
Pour M1 : La Figure 48 montre un effet significatif de l'extrait aqueux de la mixture sur les leucocytes, les basophiles, les éosinophiles, les lymphocytes et aussi sur le nombre des monocytes chez les rats traités à toutes les doses étudiées. Ces résultats ont montré une diminution par rapport aux rats témoins. Les érythrocytes (GR), hémoglobine (HGB), hématocrite, neutrophiles et les plaquettes ont présenté une augmentation significative.

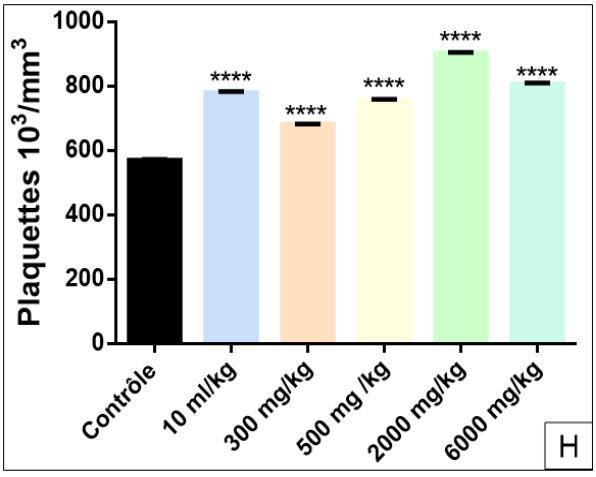
Pour d'autres paramètres tels que le volume corpusculaire moyen (MCV), l'hémoglobine corpusculaire moyenne (MCH) et la concentration moyenne en hémoglobine corpusculaire (MCHC) n'ont présenté aucun changement significatif par rapport aux animaux du groupe témoin.

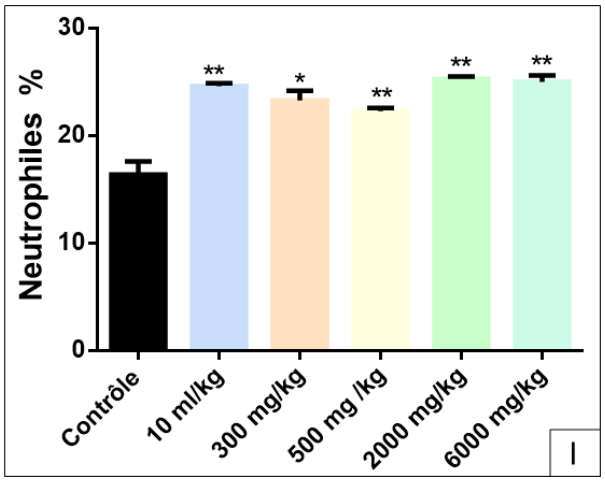


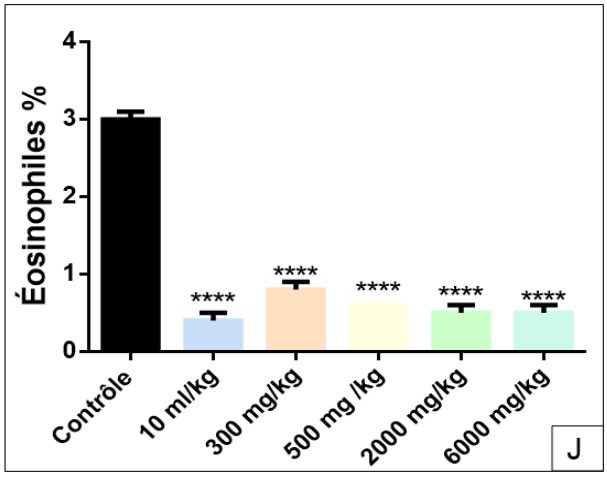

Volume globulaire moyen µ³
60
40
20
0
NS
NS
NS
NS
NS
Contrôle
10 ml/kg
300 mg/kg
500 mg /kg
2000 mg/kg
6000 mg/kg
E


Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine pg
25
20
15
10
5
0
NS
NS
NS
NS
NS
Contrôle
10 ml/kg
300 mg/kg
500 mg /kg
2000 mg/kg
6000 mg/kg
F


Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine g/dL
40
30
20
10
0
NS
NS
NS
NS
NS
Contrôle
10 ml/kg
300 mg/kg
500 mg /kg
2000 mg/kg
6000 mg/kg
G


Plaquettes 10³/mm³
1000
800
600
400
200
0
****
****
****
****
****
Contrôle
10 ml/kg
300 mg/kg
500 mg /kg
2000 mg/kg
6000 mg/kg
H


Neutrophiles %
30
20
10
0
**
*
**
**
**
Contrôle
10 ml/kg
300 mg/kg
500 mg /kg
2000 mg/kg
6000 mg/kg
I


Éosinophiles %
4
3
2
1
0
****
****
****
****
****
Contrôle
10 ml/kg
300 mg/kg
500 mg /kg
2000 mg/kg
6000 mg/kg
J

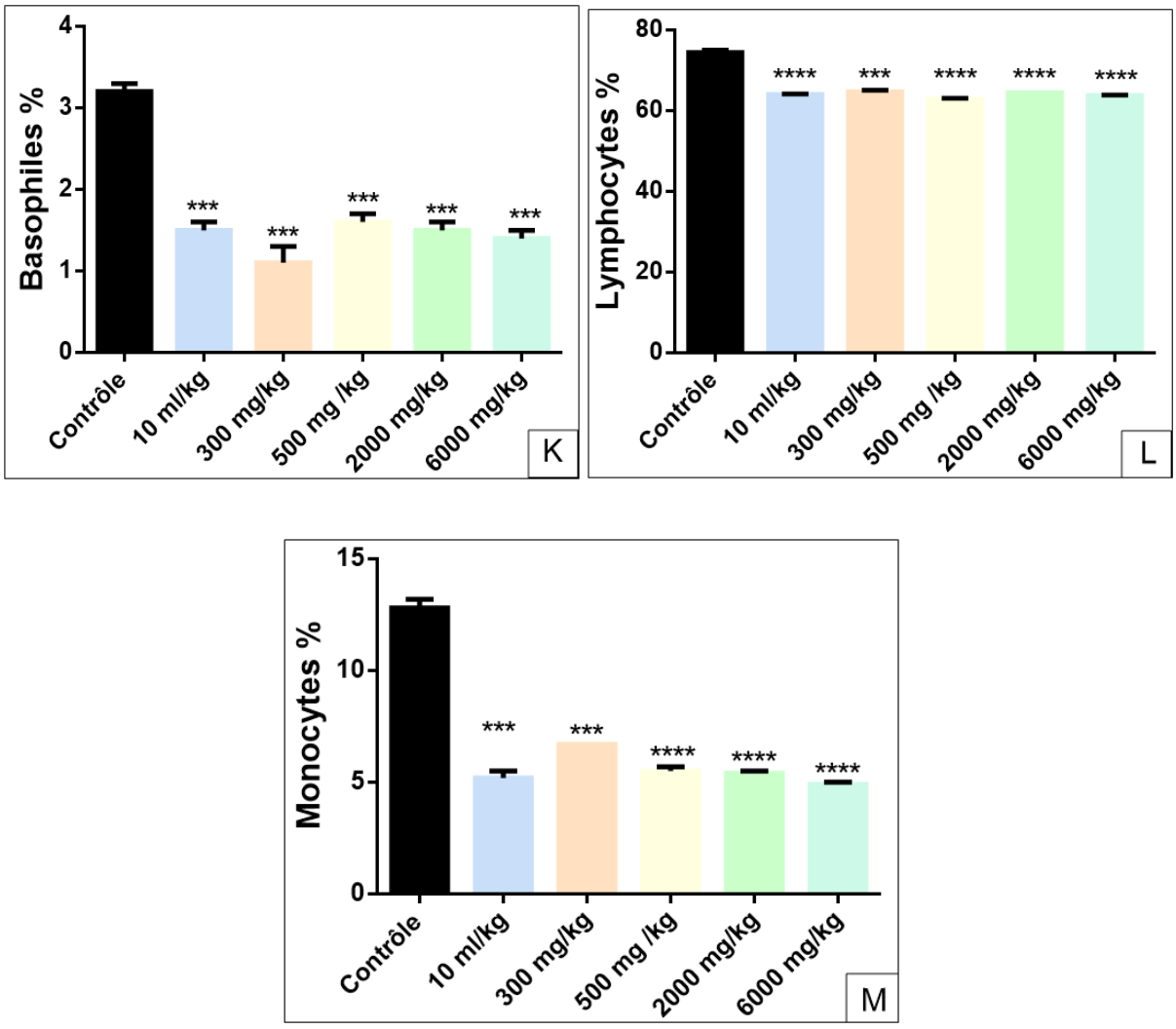


Figure 49: Effet de l'extrait aqueux de M1 sur les paramètres hématologiques du rat après 14 jours de traitement avec l'extrait aqueux du mélange.

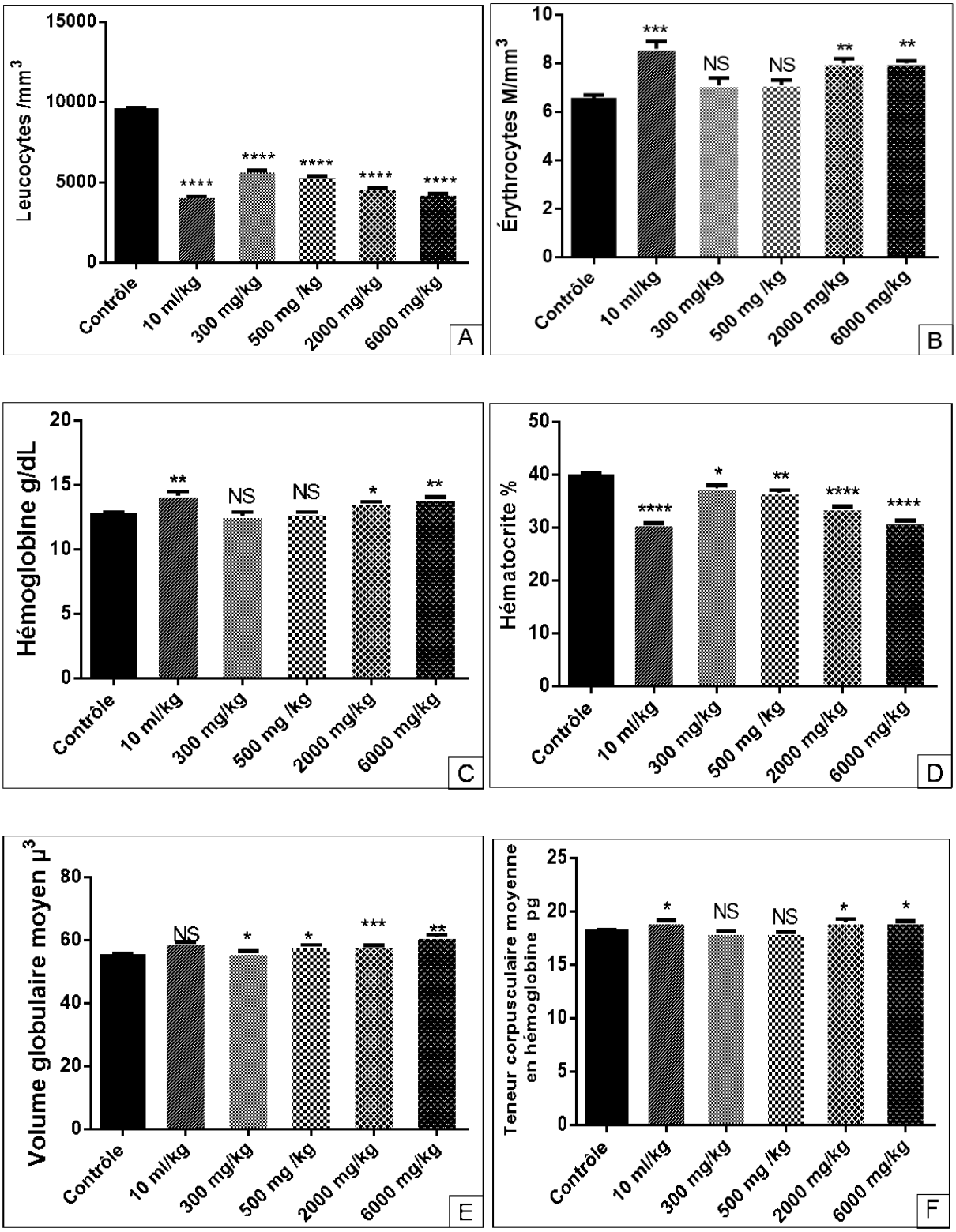
(A) :Leucocytes, (B) : Erythrocytes, (C) : Hémoglobine, (D) : Hématocrites, (E) : Volume cellulaire moyen, (F) : Hémoglobine corpusculaire moyenne, (G) : Concentration moyenne en hémoglobine corpusculaire, (H) : Plaquettes, (I) : Neutrophiles, (J) : Eosinophiles, (K) : Basophiles, (L) : Lymphocytes, (M) : Monocytes.

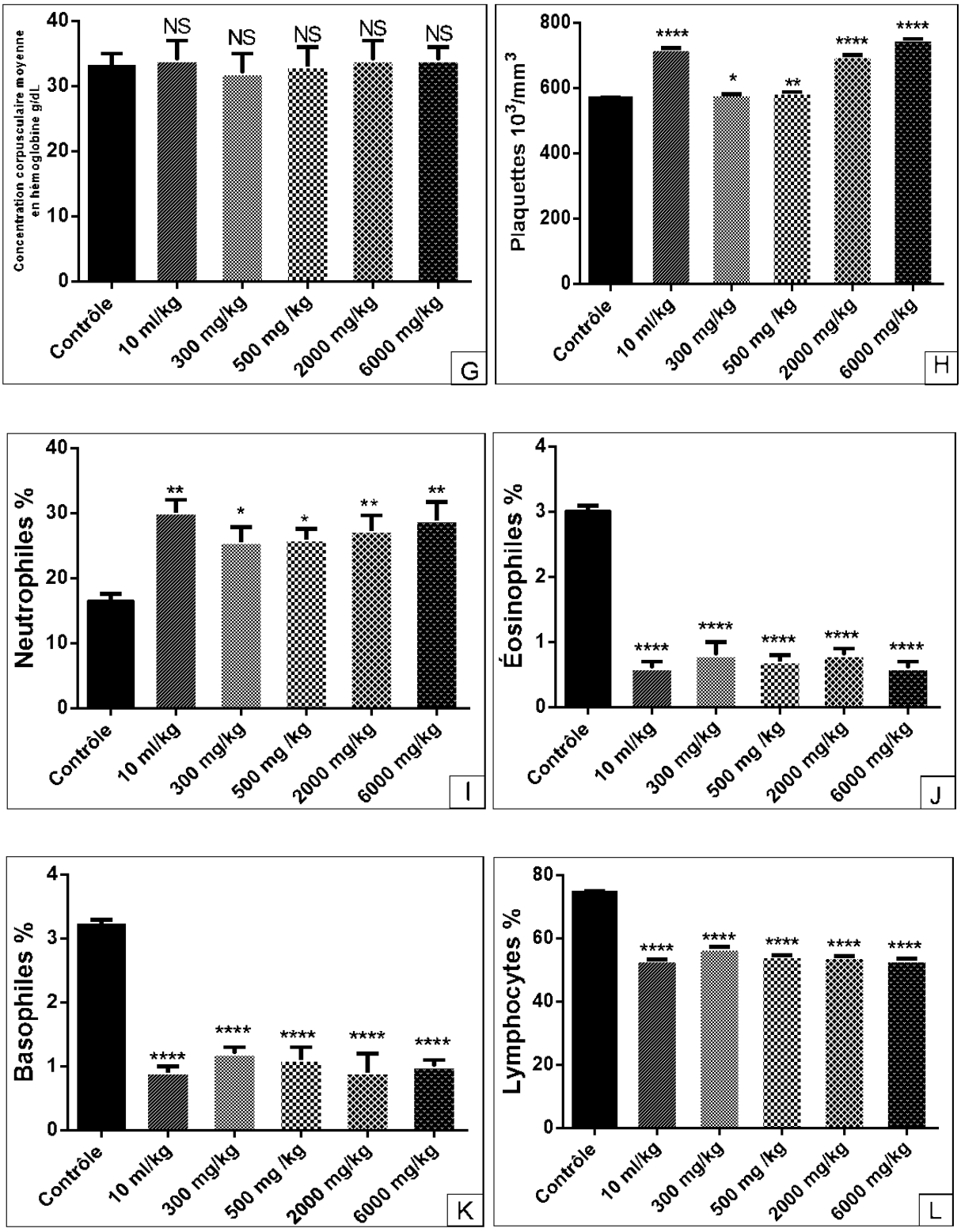
Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM. Les comparaisons sont analysées par le test de Student.

** p <0,01, *** p <0,001, **** p <0,0001, n = 3 pour chaque groupe

Pour M2 : Il y avait une augmentation significative dans les paramètres hématologiques suivantes : les érythrocytes, l'hémoglobine, l'hématocrite, les plaquettes, les neutrophiles dans toutes les doses étudiées par rapports aux groupes contrôles.

Les leucocytes, l'éosinophiles, les basophiles, les lymphocytes et les monocytes ont présenté une diminution statistiquement significative dans toutes les doses étudiées (Figure 49).


Leucocytes /mm3
15000
10000
5000
0
****
Contrôle
10 ml/kg
300 mg/kg
500 mg /kg
2000 mg/kg
6000 mg/kg
A
Érythrocytes M/mm3
10
8
6
4
2
0
***
NS
**
B
Hémoglobine g/dL
20
15
10
5
0
**
*
C
Hématocrite %
50
40
30
20
10
0
D
Volume globulaire moyen µ3
80
60
40
20
0
E
Teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine pg
25
20
15
10
5
0
F


Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine g/dL
NS
Contrôle
10 ml/kg
300 mg/kg
500 mg /kg
2000 mg/kg
6000 mg/kg
G
Plaquettes $10^3/mm^3$
H
Neutrophiles %
I
Éosinophiles %
J
Basophiles %
K
Lymphocytes %
L

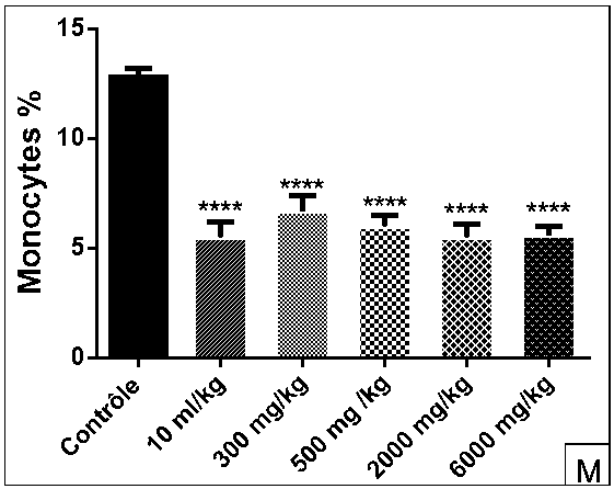


Figure 50: Effet de l'extrait aqueux de M2 sur les paramètres hématologiques du rat après 14 jours de traitement avec l'extrait aqueux de M2.

(A) :Leucocytes, (B) : Erythrocytes, (C) : Hémoglobine, (D) : Hématocrites, (E) : Volume cellulaire moyen, (F) : Hémoglobine corpusculaire moyenne, (G) : Concentration moyenne en hémoglobine corpusculaire, (H) :Plaquettes, (I) : Neutrophiles, (J) : Eosinophiles, (K) : Basophiles, (L) : Lymphocytes, (M) : Monocytes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM. Les comparaisons sont analysées par le test de Student.
** p <0,01, *** p <0,001, **** p <0,0001, n = 3 pour chaque groupe

Le système hématopoïétique est le système corporel le plus sensible aux composés toxiques (Verhelst et al., 2002). Une augmentation significative du nombre d'érythrocytes et d'hémoglobine a été observée au cours de notre étude à des doses de 500 mg / kg, 2000 mg / kg, 6000 mg / kg et 10 ml / kg, indique que l'extrait aqueux a un effet sur les cellules sanguines en circulation et sur leur production. De plus, il y avait une augmentation significative du nombre de plaquettes à toutes les doses administrées. Dans le processus inflammatoire, les plaquettes sanguines sont indispensables, elles interviennent par la libération de nombreux médiateurs comme le plasminogène, le fibrinogène, des protéases plasmatiques ainsi que de la sérotonine (Steinhubl, 2007). Les polynucléaires neutrophiles (PNN) sont formés à partir des cellules souches hématopoïétiques dans la moelle osseuse. Ils agissent dans l'inflammation grâce à différents types de récepteurs de surfaces (Descamps-Latsch et al., 1996). Durant notre étude, l'augmentation de nombre des plaquettes et des neutrophiles après l'administration aiguë de M1 et M2 peut s'expliquer par la stimulation du système hématopoïétique conduisant ainsi à la production de plaquettes et des neutrophiles devant un phénomène inflammatoire.

Les lymphocytes sont des globules blancs qui interviennent principalement dans les mécanismes de l'immunité mais ils participent à la réaction inflammatoire par la production de

différentes cytokines (Adrie et al., 2000). Les Polynucléaires basophiles sont les plus rares des polynucléaires (moins de 1 % des cellules inflammatoires). Elles présentent également un cytoplasme qui contient de très nombreuses granulations riches en médiateurs pro-inflammatoires. Les basophiles sont des cellules phagocytaires qui interviennent principalement dans les réactions allergiques (Rankin, 2004).

Les polynucléaires éosinophiles représentent de 1 à 6% des cellules inflammatoires. En plus de leurs propriétés phagocytaires (Rankin, 2004), les éosinophiles jouent un rôle principale dans l'élimination des parasites via le contenu de leurs granules. Elles participent aussi dans la modulation et la propagation de la réponse immunitaire adaptative par l'activation directe des lymphocytes T (Hogan et al., 2008). Les monocytes sont des globules blancs mononuclées présents dans le sang qui migrent vers le site inflammatoire et se différencient en macrophages. Leur principale rôle est de phagocyter l'agent agresseur ou les fragments de tissus altérés (Descamps-Latsch and Witko-Sarsat, 1996). Ils interviennent aussi dans l'amplification de la réaction inflammatoire en libérant des médiateurs stimulant d'autres cellules inflammatoires (Eming et al., 2007).

Durant notre étude, des diminutions significatives des leucocytes, des éosinophiles, des basophiles, des lymphocytes et des monocytes peuvent être le résultat d'une dépression du système immunitaire.

5. Effet de l'extrait aqueux de mixture sur le tissu hépatique

Pour M1 : La figure 50A montre l'histologie normale de la veine centrale et du lobule hépatique formés par la chaîne d'hépatocytes séparés par des sinusoïdes hépatiques. La figure 50B montre l'histologie normale de la région portale du foie avec les voies biliaires, la veine et l'artère hépatique. Toutes les sections de foie des rats traités à toutes les doses étudiées présentaient des corps apoptotiques (Figure 50C) et des sinusoïdes hépatiques dilatées (Figure 50D). De plus, les sections du foie des rats traités avec des doses de 300 et 500 mg / kg de poids corporel de l'extrait aqueux du mélange montraient des infiltrats inflammatoires lymphocytaires (Figure 50E), alors que les sections du foie des rats traités avec les doses de 2000, 6000 mg / kg et 10 ml / kg ont révélé des infiltrats inflammatoires lymphocytaires et plasmocytaires (Figure 50F). En outre, aucun changement structurel n'a été observé pour les voies biliaires, la veine et l'artère hépatique dans la région portale et aucune stéatose, fibrose, boue biliaire, hémosidérine n'étaient présents dans tous les groupes traités à toutes les doses étudiées.

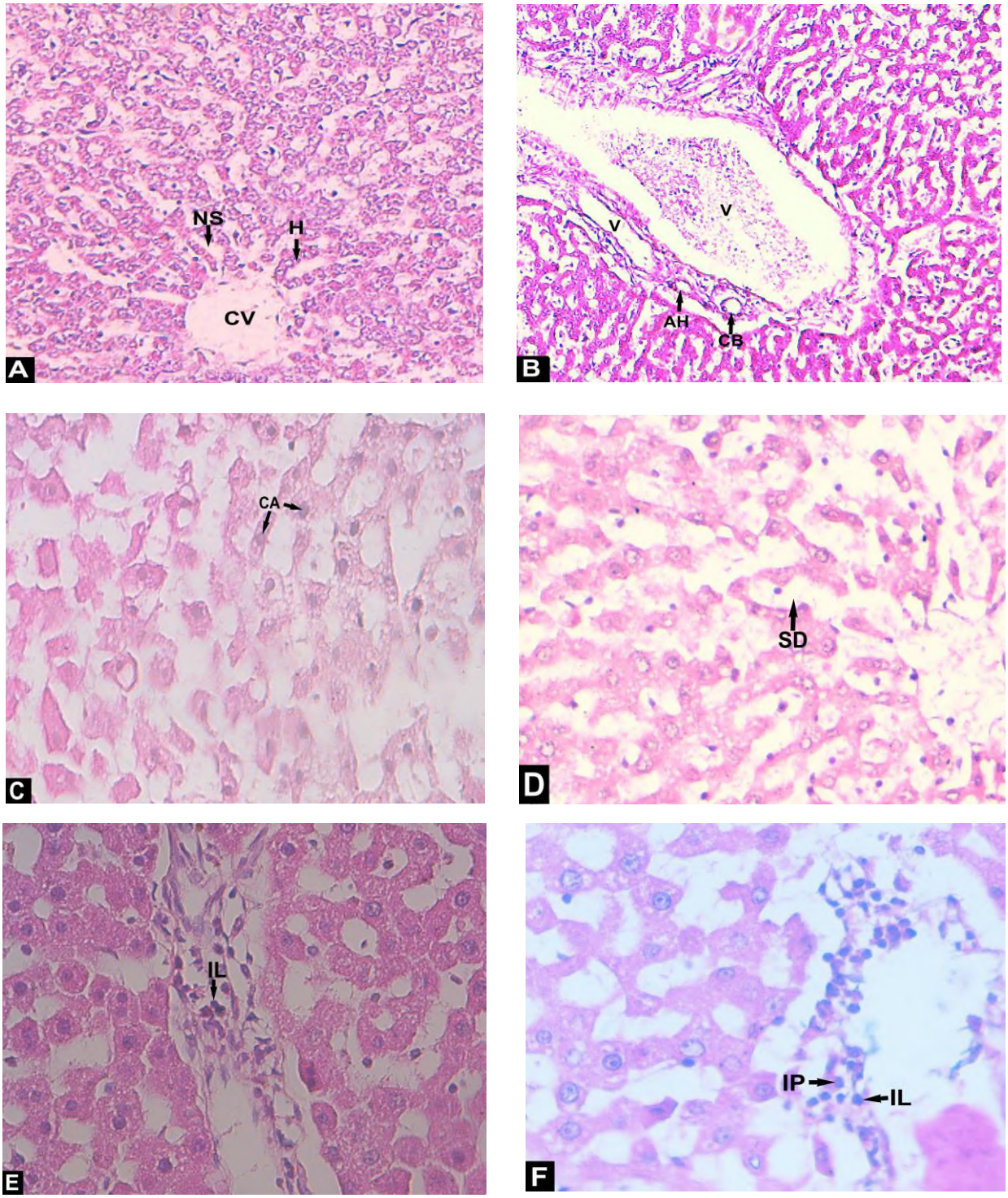


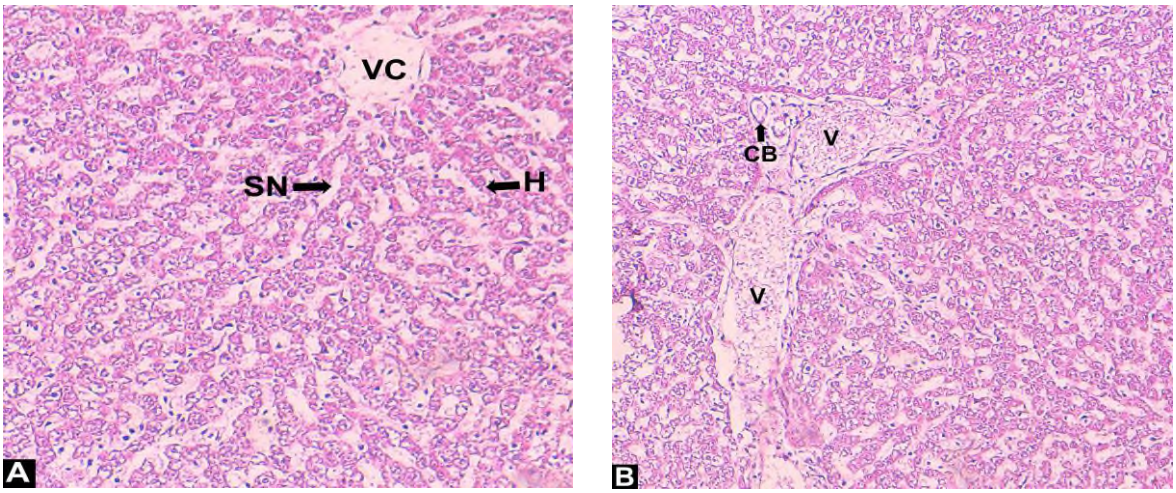
Figure 51: Effet de l'administration aiguë d'extrait aqueux de mixture M1 sur le tissu hépatique des rats

Photomicrographies de sections de foie de rats témoins (A = lobule hépatique coloré avec HES X10, B = zone portale coloré avec HES X20), C = Photomicrographies de sections de foie du groupe traité à 2 000 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X40), D = Microphotographies de sections de foie du groupe traité à 500 mg /

kg de poids corporel (coloré avec HES X20), E = Microphotographies de sections de foie du groupe traité avec 300 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X40), F = Photomicrographies de sections hépatiques du groupe traité à la dose létale (coloré avec HES X40). H = hépatocytes, NHS = sinusoïdes hépatiques normaux, CV = veine centrale, V = veine, HP = artère hépatique, CB = canaux biliaires, CA = corps apoptotiques, SD = sinusoïdes hépatiques dilatés, LI = infiltrat lymphocytaire, PI = infiltrat plasmocytaire.

Pour M2 : La Figure 51A montre l'histologie normale de la veine centrale et du lobule hépatique formés par des cordons hépatocytes séparés par des sinusoïdes hépatiques. La Figure 50B montre l'histologie normale de la région porte du foie avec les voies biliaires, la veine et l'artère hépatique.

Tous les groupes de rats traités aux différentes doses étudiées ont montré des corps apoptotiques dans toutes les sections du foie (Figure 51C) et des sinusoïdes hépatiques dilatés (Figure 51D). En outre, les sections hépatiques des rats traités avec des doses de 300 et 500 mg/kg présentaient des infiltrats inflammatoires lymphocytaires et plasmocytaires (Figure 51E), tandis que les sections hépatiques des rats traités avec les doses de 2000 mg/kg, 6000 mg/kg et 10 ml/kg présentaient des infiltrats inflammatoires lymphocytaires, plasmocytaires et éosinophiliques (Figure 51F). En outre, aucun changement structurel n'a été observé au niveau des voies biliaires, de la veine et de l'artère hépatique dans la région portale et aucune stéatose, fibrose, boue biliaire et hémosidérine n'étaient présents dans tous les groupes des rats traités.



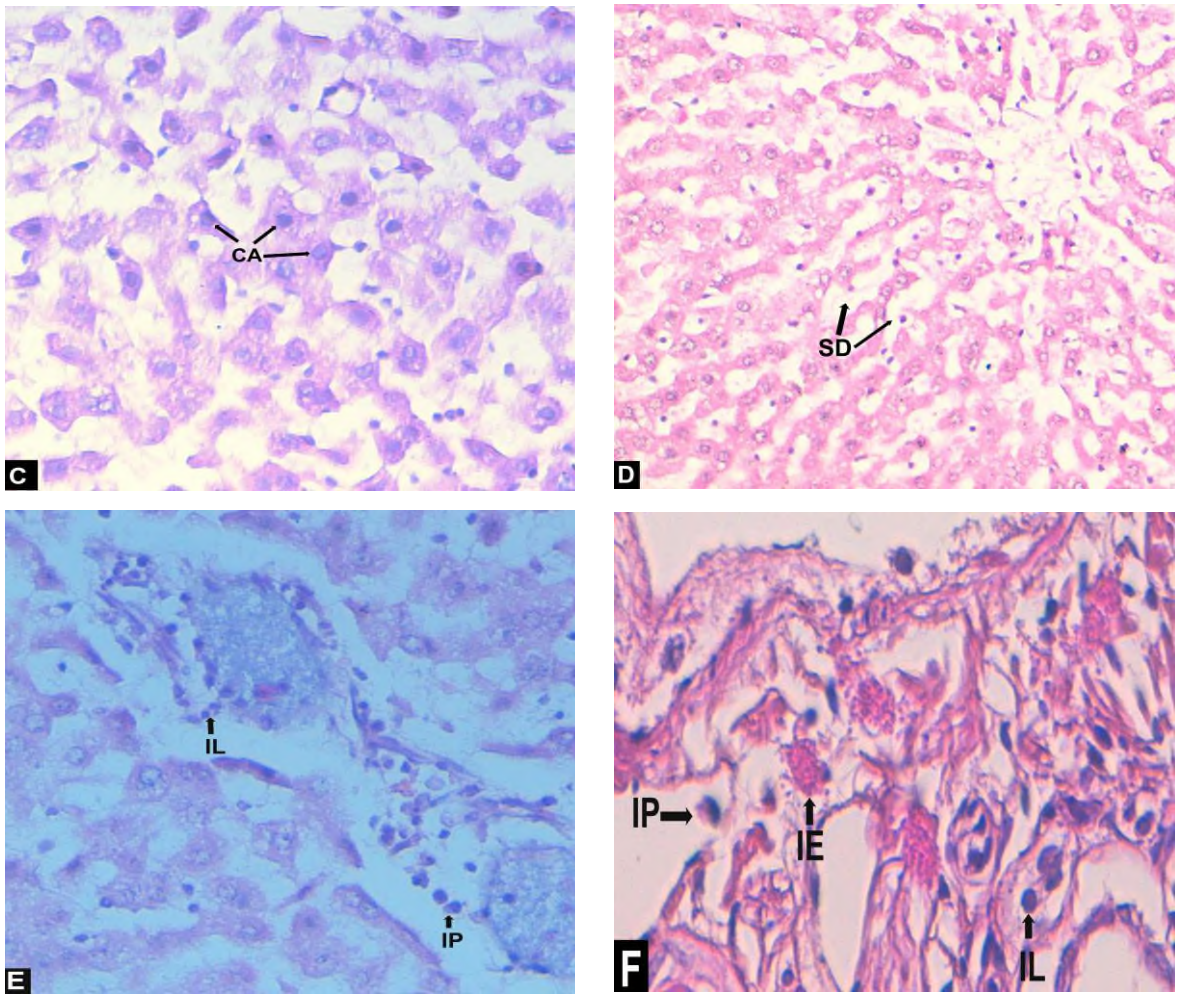


Figure 52: Effet de l'administration aiguë d'extrait aqueux de la mixture M2 sur le tissu du foie des rats

Photomicrographies de sections de foie de rats témoins (A = lobule hépatique coloré avec HES X10, B = zone portale coloré avec HES X20), C = Photomicrographies de sections de foie du groupe traité à 2 000 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X40), D = Microphotographies de sections de foie du groupe traité à 500 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X20), E = Microphotographies de sections de foie du groupe traité avec 300 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X40), F = Photomicrographies de sections hépatiques du groupe traité à la dose létale (coloré avec HES X40). H = hépatocytes, NHS = sinusoïdes hépatiques normaux, VC = veine centrale, V = veine, CB = canaux biliaires, CA = corps apoptotiques, SD = sinusoïdes hépatiques dilatés, IL = infiltrat lymphocytaire, IP = infiltrat plasmocytaire, EI= infiltrat éosinophilique.

6. Effet de l'extrait aqueux de deux mixtures sur le tissu rénal

Pour M1 : La Figure 52A montre l'histologie normale du rein avec le cortex normal, le tube contourné distal, le tube contourné proximal et le Glomérule. Aucun changement structurel n'a été observé dans tous les groupes des rats traités à toutes les doses étudiées (Figure 52B).

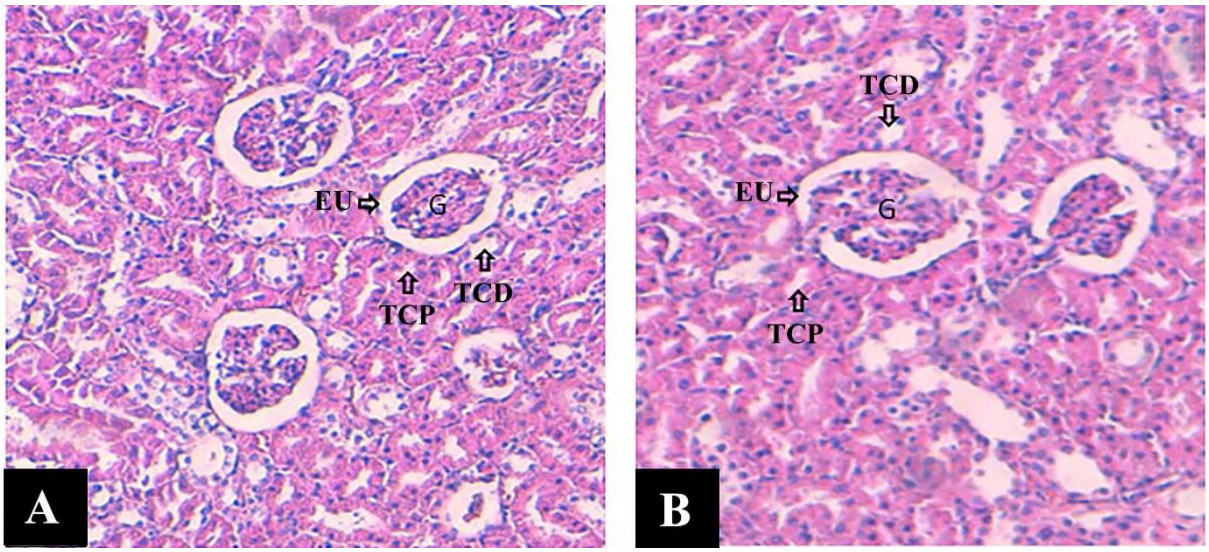


Figure 53: Effet de l'administration aiguë d'extrait aqueux de la mixture M1 sur le tissu rénal des rats

A = Photomicrographies des sections rénales du groupe contrôle (coloré avec HES X10), B = Photomicrographies des sections rénales du groupe traités par M1 à 2000 mg/kg (coloré avec HES X10), EU = espace urinaire, G = Glomerule, TCD = Tube contourné distal, TCP = Tube contourné proximal.

Pour M2 : La Figure 53A montre l'histologie normale du rein avec le cortex normal, le tube contourné distal, le tube contourné proximal et le Glomérule. Aucun changement structurel n'a été observé dans tous les groupes des rats traités à toutes les doses étudiées (Figure 53B).

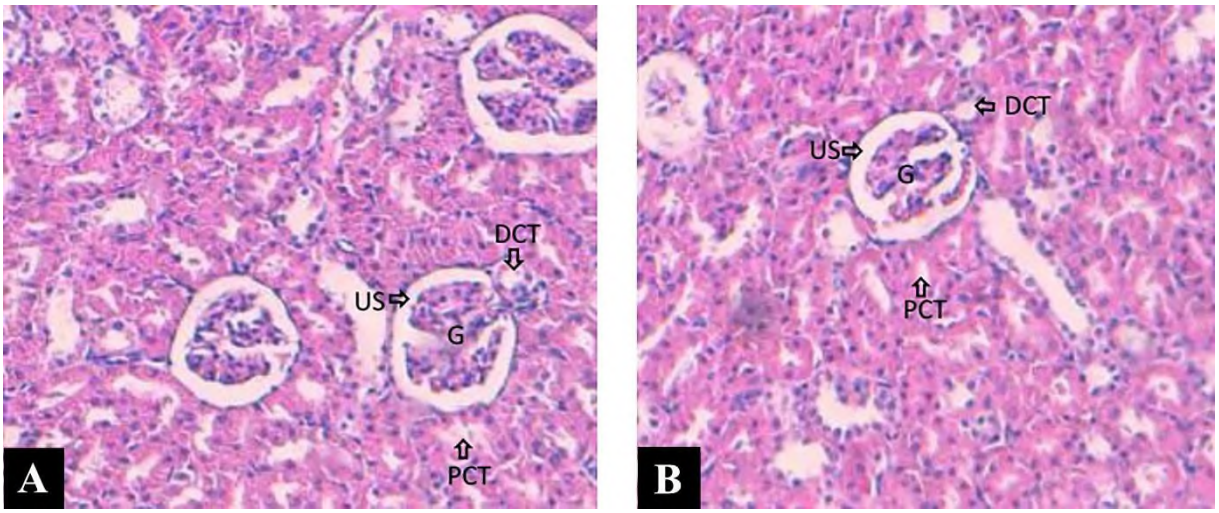


Figure 54: Effet de l'administration aiguë d'extrait aqueux de la mixture M2 sur le tissu rénal des rats

A = Photomicrographies des sections rénales du groupe contrôle (coloré avec HES X10), B = Photomicrographies des sections rénales du groupe traités par M2 à 6000 mg/kg (coloré avec HES X10), EU = espace urinaire, G = Glomerule, TCD = Tube contourné distal, TCP = Tube contourné proximal

Les produits toxiques peuvent provoquer des lésions conduisant à une apparence hépatocytaire œdémateuse et enflée (dégénérescence des hépatocytes) avec un cytoplasme irrégulier et de grandes espaces libres (Eshetu et al., 2016). La nécrose est caractérisée par un gonflement cellulaire, des fuites, une désintégration nucléaire et un afflux de cellules inflammatoires (Treinen-Moslen, 1996). Durant notre étude, toutes les sections histologiques du foie à la dose de 300 mg / kg, 500 mg / kg, 2000 mg / kg, 6000 mg / kg et 10 ml / kg ont présenté des corps apoptotiques qui peuvent être expliquer par une nécrose hépatique.

Les sinusoïdes sont des vaisseaux capillaires hautement spécialisés qui assurent la vascularisation du lobule hépatique ; c'est un lieu d'échange massif entre le sang et les hépatocytes. Les modifications structurelles et fonctionnelles des sinusoïdes hépatiques sont caractérisées par la destruction de la paroi des cellules endothéliales ou la dilatation de la lumière, ce dernier changement se produit chaque fois que le flux sanguin hépatique est empêché (Treinen-Moslen, 1996). Au cours de notre étude, des dilatations des sinusoïdes hépatiques ont été observées dans toutes les sections du foie des rats traités à toutes les doses étudiées.

La réaction inflammatoire était présente dans notre étude en raison de la présence d'un infiltrat lymphocytique à la dose de 300 mg / kg, ainsi que d'un infiltrat lymphocytaire et plasmocytaire dans l'espace porte des hépatocytes à la dose de 500 mg / kg, 2 000 mg / kg et 10 ml/kg.

Concernant le rein, d'un point de vue histologique, la toxicité aiguë tubulaire se caractérise par une vacuolisation du cytoplasme tubulaire (Randhawa et al., 1999; Katari et al., 1997), conséquence de la dilatation du réticulum endoplasmique et de l'augmentation du nombre de lysosomes. Néanmoins, la vacuolisation isométrique tubulaire pourrait également être la conséquence de l'ischémie induite par la vasoconstriction des artérioles afférentes (Naesens et al., 2009; Pallet et al., 2008).

Durant notre étude, l'administration aiguë de l'extrait aqueux des deux mixtures n'a présenté aucun changement de tissu rénal chez tous les groupes des rats traités aux différentes doses étudiées.

II. Evaluation de la toxicité subaiguë

1. Signes de toxicité et poids corporel

L'étude de la toxicité subaiguë par voie orale pour les deux mixtures a montré une diarrhée après 2 heures et une somnolence après 3 heures après l'administration de la dose de 500 mg/kg. Les rats ont été agités après 24 heures. Aucun décès, constipation, œdème, tumeur et convulsions n'ont été observé (Tableau 24).

Tableau 24: Principaux singes de toxicité recherchés après une administration subaiguë de deux mixtures

	Signes cliniques de toxicité							
	Diarrhée	Constipation	Agitation	Œdème	Tumeur	Convulsion	Somnolence	Décès
Contrôle	-	-	-	-	-	-	-	-
Mixture M1 (500 mg/kg)	+ *	-	+**	-	-	-	+***	-
Mixture M2 (500 mg/kg)	+*	-	+**	-	-	-	+***	-

(-) : Absent, (+) : Présent, * : Après 2 heures, ** : Après 24 heures, *** : Après 3 heures

L'administration subaiguë de l'extrait aqueux de M1 et M2 à la dose de 500 mg/kg a montré une diminution statistiquement significative ($p<0,01$, $p<0,1$ respectivement) du poids corporel des rats traités en comparaison avec le poids corporel des rats témoins (Tableau 25).

Le changement du poids corporel est utilisé comme un indicateur des effets indésirables des composés chimiques (El Hilaly et al., 2004). Ainsi, la perte du poids est corrélée à l'état physiologique

de l'animal et peut être expliquée, non seulement par l'anorexie (Betti et al., 2012), mais aussi par l'altération du métabolisme des animaux (Mukinda et al., 2007).

Tableau 25: Effet de l'administration subaiguë de M1 et M2 sur le poids corporel des rats

		Jours					Significativité
		1	7	14	21	28	
Poids corporel (g)	**M1 (500 mg/kg)**	165,7±9.2	142,8±10,3	138.2±9,7	136,6±11	131.3±7	** (p<0,01)
	M2 (500 mg/kg)	156,5±11,4	140,4±8,9	136,8±10	133,1±8,4	128,4±9,1	* (p<0.1)

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM. Les comparaisons sont analysées par le test de Student.

** p <0,01, *** p <0,001, **** p <0,0001, n = 3 pour chaque groupe

2. Effet de l'extrait aqueux des mixture M1 et M2 sur le poids relatif des organes

Après les 28 jours de l'expérience, chaque rat a été sacrifié, le foie, les reins et la rate ont été immédiatement extraits, et leurs poids ont été pris pour calculer le poids relatif des organes.

Généralement, le changement du poids des organes internes est un indice de toxicité après l'exposition à une substance toxique (Al-Shabanah et al., 2002). Durant notre recherche l'administration subaiguë de l'extrait aqueux a présenté une diminution statistiquement significative des poids relatifs des reins, du foie et de la rate des rats traités par rapport au groupe témoin (Tableau 26).

Ces résultats suggèrent alors un risque de toxicité des extraits sur des organes vitaux de l'organisme.

Tableau 26: Effet de l'administration subaiguë de deux mixtures sur le poids relatif des organes des rats

	M1		M2	
	Contrôle	500 mg/kg	Contrôle	500 mg/kg
Reins (g)	10,9±0,3	6,2±0,7	9,8±0,4	5,2±0,3
Significativité	*** (p<0,001)		**** (p<0,0001)	
Foie (g)	55,1±1,3	33,4±1,6	52,6±2.1	34,5±1,8
Significativité	**** (p<0,0001)		*** (p<0,001)	
Rate (g)	5,6±0,2	3,4±0,4	6,4±0,3	3,6±0,3
Significativité	** (p<0,01)		*** (p<0,001)	

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM. Les comparaisons sont analysées par le test de Student.

** p <0,01, *** p <0,001, **** p <0,0001, n = 3 pour chaque groupe

3. Effet de l'extrait des mixtures sur les paramètres biochimiques

L'administration subaiguë à dose de 500 mg/kg par voie orale de M1 et M2 a présenté une augmentation statistiquement significative des ALAT et ASAT. Ces résultats suggèrent une toxicité hépatique de M1 et M2.

L'administration subaiguë de l'extrait aqueux de M2 a montré une augmentation significative dans le taux de bilirubines totales et gamma-glutamyltransférase (GGT) chez les rats recevaient une dose de 500 mg/kg en comparaison au groupe témoin.

Les protéines totales, la bilirubine (totale et directe) et la gamma-glutamyltransférase (GGT) n'ont présenté aucun changement statistiquement significatif après l'administration subaiguë de M1.

Le foie est un organe vital. Il remplit de multiples fonctions et son rôle est très important dans le maintien de l'équilibre général. Il participe à la digestion, à l'emmagasinage des aliments ainsi qu'à la détoxication, en aidant l'organisme à se débarrasser de ses poisons, et à l'élimination. Il a un rôle important dans la transformation des substances circulant dans le sang, dont les substances toxiques qui y sont véhiculées et qui dans plusieurs cas peuvent y être neutralisées (Lapointe, 2004).

Sur le plan fonctionnel, les transaminases (ALAT et ASAT) sont les principaux indicateurs de la toxicité hépatique (Hodgson, 2004). En effet ; toute nécrose cellulaire, destruction du parenchyme hépatique ou une augmentation de la perméabilité membranaire des hépatocytes entraine l'écoulement de ces enzymes dans la circulation sanguine et donc l'augmentation de leurs taux sériques (Ibukunoluwa, 2017; Kumar et al., 2017; Jodynis-Liebert et al., 2010; Adeneye et al., 2006). La bilirubine est un pigment jaune provenant de la dégradation de l'hémoglobine, les principales causes de leur augmentation dans le sang sont : un rétrécissement sur les vois biliaires (calcul, tumeur des voies biliaires ou des pancréas etc.), les maladies du foie (hépatite, cirrhose etc.), une destruction anormalement importante des globules rouges. La GGT est une autre enzyme hépatique qui joue un rôle important dans le métabolisme des acides aminés. Le taux sérique de GGT augmente lors de pathologie hépatobiliaire, comme : Cholestase, hépatites, métastase hépatique, tumeurs primitives du foie et cirrhose alcoolique (Enoiu, 2001).

Le rein est un organe a de multiples fonctions : hormonales, de régulation de la pression sanguine et d'élimination des toxines. Plusieurs facteurs expliquent la vulnérabilité du rein aux produits toxiques, y compris les toxines contenues dans les plantes médicinales à savoir : le pH urinaire, le débit sanguin rénal, la surface de l'endothélium rénal, l'activité métabolique importante du rein, l'absorption active des toxines par les cellules tubulaires rénales et leur accumulation au niveau de l'interstitium médullaire (Singh and Prakash, 2011). D'autre part, la pharmacocinétique et la pharmacodynamique des principes actifs contenus dans les plantes médicinales ne sont pas bien connus, et encore moins leur interaction avec les reins (Barnes et al., 2004).

Le bilan biochimique rénal sert à dépister un éventuel dysfonctionnement du rein. Il comprend en première approche quelques examens biochimiques : urée, créatinine, et acide urique (Timbrell, 2008). En effet, ces paramètres ont des valeurs élevées en cas d'altération du mécanisme de la filtration rénale (Taghizadeh et al., 2017; Wasan et al., 2001). Durant notre étude, l'administration subaiguë de l'extrait aqueux de M1 et M2 a montré une augmentation statistiquement significative dans le taux de créatinine, urée et d'acide urique par rapport au témoin.

Dans le profil lipidique et les électrolytes, le taux des triglycérides, magnésiums et phosphores ont montré une augmentation significative après l'administration subaiguë de M1 et M2 à dose de 500 mg/kg (Tableau 27).

Tableau 27: Effet de l'administration subaiguë de deux Mixtures sur les paramètres biochimiques des rats

		Mixture M1	Mixture M2
	Contrôle	500 mg/kg	500 mg/kg
Profil hépatique			
ALAT (U/l)	61,00±5,00	90,00±9,00*	87,50±4,50*
ASAT (U/l)	211,50±2,50	725,00±3,25****	811,00±12,50****
Protéines totales (g/l)	45,50±2,4	48,50±8,50^{NS}	58,50±5,50^{NS}
Bilirubine totale (mg/l)	1,00±00,00	2,00±0,00	2,50±0,50*
Bilirubine directe (mg/l)	1,00±00,00	1,00±00,00^{NS}	1,00±00,00^{NS}
Phosphatases alcalines (U/l)	412,00±11,00	275,00±17,00**	286,50±9,00***
GGT (U/l)	4,00±00,00	4,00±00,00^{NS}	7,50±0,50**
Profil rénal			
Créatinine (mg/l)	3,66±0,33	5,00±0.00*	5,50±0,01**
Urée (g/l)	0,33±0,01	0,53±0,03**	0,54±0,01***
Acide urique (mg/l)	13,50±1,00	18,50±0,50*	26,00±0,50**
Profil lipidique			
Cholestérol total (g/l)	0,59±0,05	0,81±0,01*	0,68±0,03NS
Cholestérol - HDL(g/l)	0,21±0,02	0,27±0,03NS	0,28±0.03NS
Triglycérides (g/l)	0,73±0,07	0,70±0,01**	0,46±0,03*
Électrolytes			
Magnésium (mg/l)	33,50±2,50	21,00±0,11*	24,00±0,02*
Phosphores (mg/l)	140,00±7,00	109,00±5,50*	92,50±6,50**
Ferritine (ng/l)	15,00±0,57	18,00±0.00**	19,50±1,50*
Fer sérique (µg/l)	1,64±0,10	2,69±0,19**	2,13±0,11*

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM. Les comparaisons sont analysées par le test de Student

** p <0,01, *** p <0,001, **** p <0,0001, n = 3 pour chaque groupe

4. Effet de l'extrait de deux mixtures sur les paramètres hématologiques

Le système hématopoïétique est parmi les cibles les plus sensibles des toxiques, ce qui fait des affections de ce système un bon indice de toxicité d'une substance (Adeneye et al., 2006). Durant notre étude, l'administration subaiguë de M1 et M2 a montré une diminution statistiquement significative des leucocytes, érythrocytes, éosinophiles, basophiles, lymphocytes et des

monocytes. Par contre, l'hématocrite, la concentration moyenne en hémoglobine corpusculaire, les plaquettes et les neutrophiles ont présenté une augmentation statistiquement significative en comparaison au contrôle. Les autres paramètres tels que l'hématocrite, volume cellulaire moyen et la concentration moyenne en hémoglobine corpusculaire n'ont présenté aucun changement en comparaison avec le groupe contrôle (Tableau 28).

Les lymphocytes, basophiles, monocytes, éosinophiles et les neutrophiles sont des cellules impliquées dans la réaction immunitaire de l'organisme, elles jouent un rôle important dans les mécanismes inflammatoires (Eming et al., 2007; Rankin, 2004; Adrie and Pinsky, 2000; Descamps-Latsch and Witko-Sarsat, 1996). La diminution de nombre des leucocytes, éosinophiles, basophiles, lymphocytes et monocytes après l'administration subaiguë de M1 et M2 peut être expliquer par une dépression de système immunitaire des rats traités. Néanmoins, l'augmentation de nombre des neutrophiles est considérée comme une réponse immunitaire à un phénomène inflammatoire.

Tableau 28: Effet de l'administration subaiguë de la première et deuxième mixture sur les paramètres hématologiques des rats

		Mixture M1	Mixture M2
	Contrôle	500 mg/kg	500 mg/kg
Leucocytes /mm3	9510±158.8	4530±126,3**	5723±98,1****
Erythrocytes M/mm3	6,50±0,20	4,10±0.11***	3,90±0,30***
Hémoglobine g/dL	12,7±0,2	13,20±0,1^{NS}	11,30±0,1**
Hématocrite %	39,7±0,7	45,9±0,5**	41,1±0,1^{NS}
Volume cellulaire moyen µ3	55,1±0,7	53,30±0,8^{NS}	54,2±0,40^{NS}
Hémoglobine corpusculaire moyenne pg	18,2±0,1	17,9±0,1^{NS}	17,30±0,30*
Concentration moyenne en hémoglobine corpusculaire d/dL	33,4±0,1	33,9±0.1*	33,8±0,10^{NS}
Plaquettes 103/mm3	570,00±2,60	856±7.40****	798±4.6****
Neutrophiles %	16,4±1,2	23,20±1,80*	27,10±2.1*
Eosinophiles %	3,00±0.1	0,50±0,2***	0,80±0,1****
Basophiles %	3,2±0,1	0,9±0,3**	1,1±0.1***
Lymphocytes %	74.4±1.2	45,3±1.8***	41,1±2,1***
Monocytes %	12.8±0,4	6,3±0,4***	4,30±0.7***

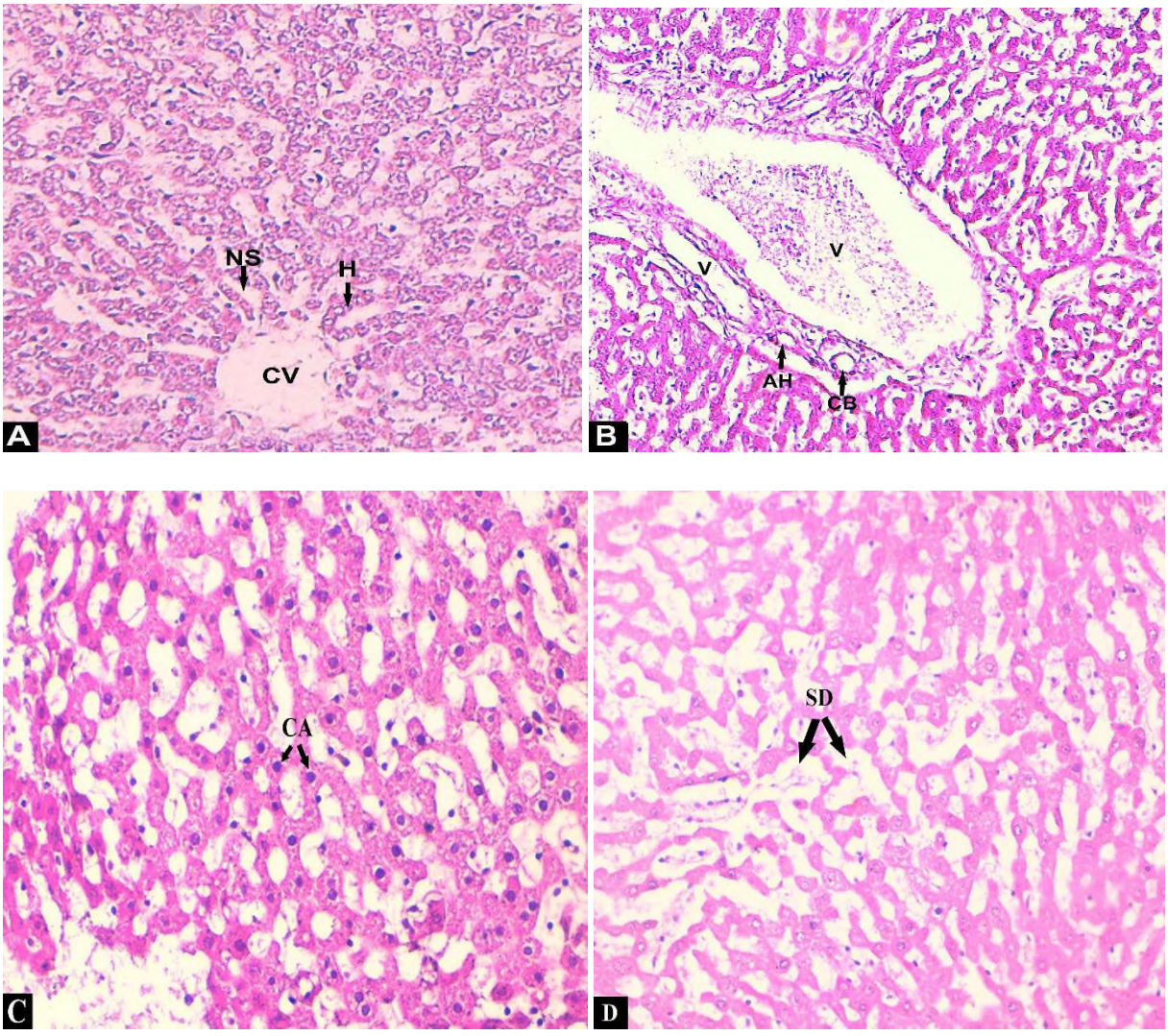
Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM. Les comparaisons sont analysées par le test de Student.

** p <0,01, *** p <0,001, **** p <0,0001, n = 3 pour chaque groupe

5. Effet de l'extrait aqueux de M1 et M2 sur le tissu hépatique

Pour évaluer l'état du foie, en plus des tests biochimiques, un examen histologique approfondi doit être mis en place (Rajender et Faust, 2006).

L'administration subaiguë de l'extrait aqueux de M1 et M2 a montré une dilatation sinusoïdale et des corps apoptotiques dans toutes les sections du foie (Figure 54C, 54D, 55C et 55D). De plus, les sections de foie des rats ont présenté des infiltrats inflammatoires de type éosinophiliques, plasmocytaire et neutrophilique (Figure 54E 54F et 55 F).



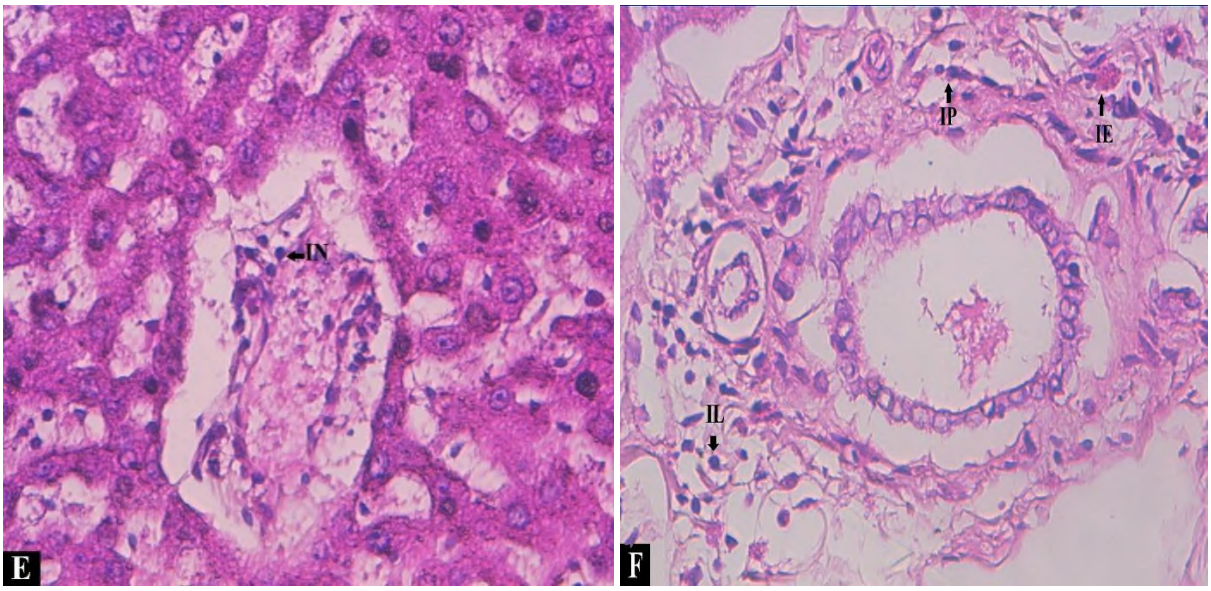


Figure 55: Effet de l'administration subaiguë de mixture M1 sur le tissu hépatique des rats

Photomicrographies de sections de foie de rats témoins (A = lobule hépatique coloré avec HES X10, B = zone portale coloré avec HES X20), C = Photomicrographies de sections de foie du groupe traité à 500 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X40), D = Microphotographies de sections de foie du groupe traité à 500 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X20), E = Microphotographies de sections de foie du groupe traité avec 500 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X40), F = Photomicrographies de sections hépatiques du groupe traité à 500 mg/kg (coloré avec HES X40). H = hépatocytes, NHS = sinusoïdes hépatiques normaux, VC = veine centrale, V = veine, CB = canaux biliaires, CA = corps apoptotiques, SD = sinusoïdes hépatiques dilatés, IL = infiltrat lymphocytaire, IP = infiltrat plasmocytaire, EI= infiltrat éosinophilique, IN= Infiltrat neutrophilique.

L'administration subaiguë de l'extrait aqueux de M2 a montré des infiltrats inflammatoires de type lymphocytaire (Figure 55E).

En outre, aucun changement structurel n'a été observé pour les voies biliaires, la veine et l'artère hépatique dans la région portale et aucune stéatose, fibrose, boue biliaire, hémosidérine n'étaient présents dans tous les groupes traités.

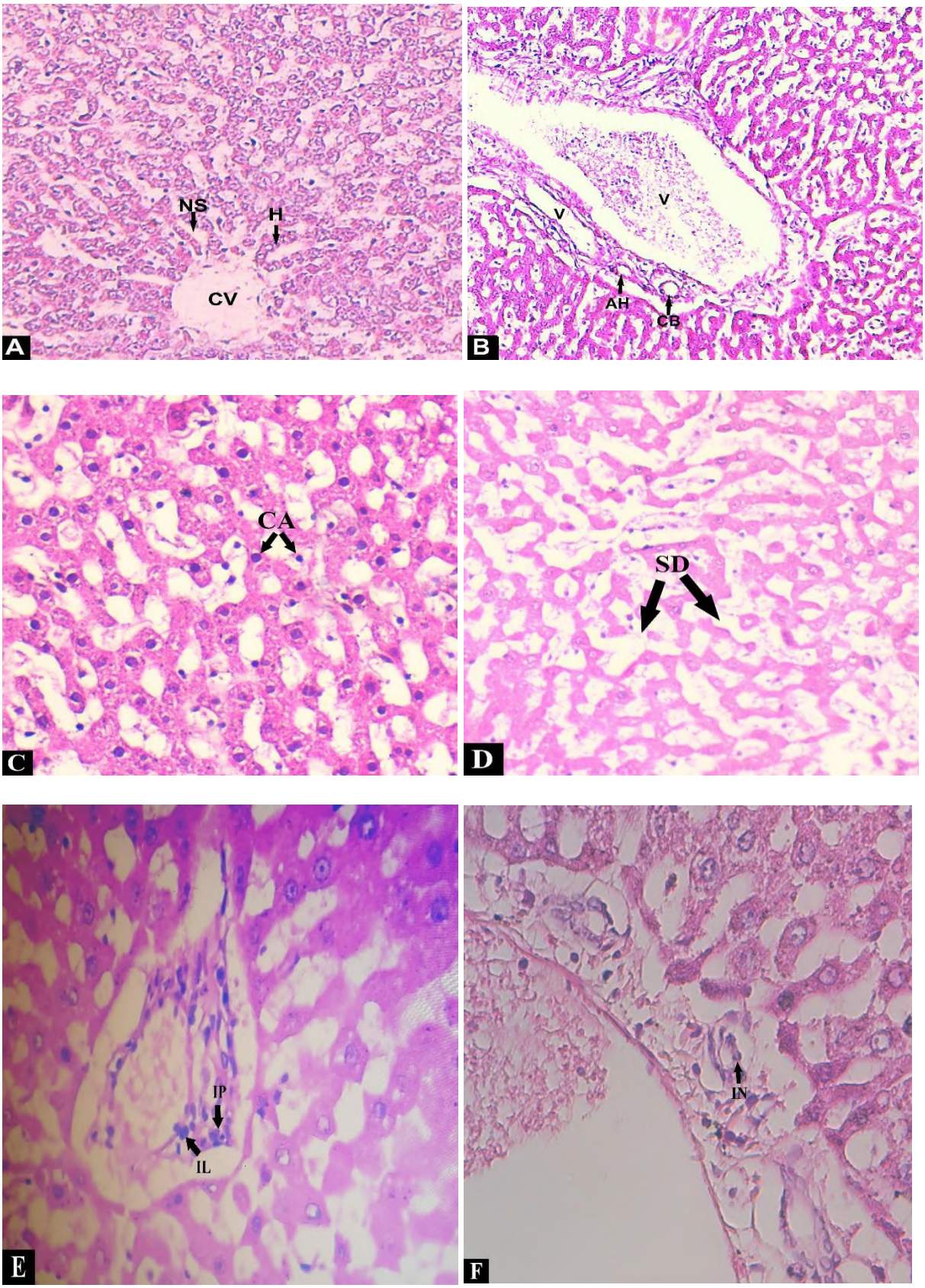


Figure 56: Effet de l'administration subaiguë de M2 sur le tissu hépatique des rats

Photomicrographies de sections de foie de rats témoins (A = lobule hépatique coloré avec HES X10, B = zone portale coloré avec HES X20), C = Photomicrographies de sections de foie du groupe traité à 500 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X40), D = Microphotographies de sections de foie du groupe traité à 500 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X20), E = Microphotographies de sections de foie du groupe traité avec 500 mg / kg de poids corporel (coloré avec HES X40), F = Photomicrographies des sections hépatiques du groupe traité à 500 mg/kg (coloré avec HES X40). H = hépatocytes, NHS = sinusoïdes hépatiques normaux, VC = veine centrale, V = veine, CB = canaux biliaires, CA = corps apoptotiques, SD = sinusoïdes hépatiques dilatés, IL = infiltrat lymphocytaire, EI= infiltrat éosinophilique, IN= Infiltrat neutrophilique.

L'inflammation est un mécanisme de réponse à une lésion tissulaire visant à la circonscrire et à la réparer. L'inflammation fait intervenir des cellules, des vaisseaux, la matrice extracellulaire et de nombreux médiateurs chimiques qui peuvent être pro ou anti-inflammatoires et qui peuvent modifier ou entretenir la réponse inflammatoire (Rousselet et al., 2005). À la différence de ce qui se passe dans l'inflammation aigue, les phases vasculaires et cellulaires ne se succèdent pas mais coexistent tout au long de l'évolution de l'inflammation. Des phénomènes de destruction tissulaire et de tentatives de réparation sont également présents (Weill et al., 2003). Les cellules mononuclées et particulièrement les macrophages constituent l'essentiel de l'infiltrat cellulaire vers le site inflammatoire (Weill and Batteux, 2003; Fauve et al., 1998). La présence de lymphocytes dans l'infiltrat est habituelle. Tandis que la présence des polynucléaires éosinophiles est caractéristique des inflammations chroniques allergiques et parasitaires (Dombrowicz et al., 2001). L'exsudation plasmatique permet l'apparition de plusieurs substances dans les espaces extravasculaires : anticorps, substances bactéricides, facteurs de coagulation, composants du complément, interleukines et des dérives de l'acide arachidonique, ceci conduit à un afflux extravasculaire des leucocytes attires par les chimioattractants et ceux libères au niveau du site enflammé (Schoroderet, 1992) elle débute avec les polynucléaires neutrophiles, suivis dans un second temps par les cellules mononucléaire, principalement les macrophage qui entrainant la phagocytose des agents extérieurs permettant la destruction de l'agent pathogène par les polynucléaires neutrophiles , le nettoyage du foyer inflammatoire et l'élimination des débris cellulaires et tissulaires (Fauve and Hevin, 1998).

La présence de différentes cellules leucocytaires (lymphocytes, plasmocytes, neutrophiles et éosinophiles) dans le tissu hépatique après l'administration orale de l'extrait aqueux M1 et M2 peut expliquer par une réponse inflammatoire face aux produits toxiques de M1 et M2.

Les principales atteintes hépatiques d'origine toxique sont subdivisées en deux : d'une part, les Atteintes aiguës qui comprend la stéatose (surcharge graisseuse), Cholestase (arrêt de

l'écoulement biliaire) et la Nécrose hépatique (cytolyse hépatique ou hépatite) et d'autre part, les atteinte chronique qui englobent l'hépatite chronique qui peut à l'origine d'une insuffisance hépatique telle que la fibrose, Cirrhose et Cirrhose lobulaires, tumeurs (Kaplowitz, 1997; Lùllmann et al.,1998). La nécrose hépatique implique la destruction des hépatocytes, elle peut être focale (Centrolobulaire-médiane, ou périphérique) ou généralisée : c'est la plupart du temps une lésion aiguë (mort cellulaire ou tissulaire) (Frank, 1992). L'administration subaiguë de l'extrait aqueux de M1 et M2 montre des corps apoptotiques dans toutes les sections du foie des rats traités à la dose de 500 mg/kg, dont le risque de la nécrose hépatique est présent.

Les sinusoïdes hépatiques sont des capillaires étroits délimités par des cellules endothéliales fenestrées reliant l'artère hépatique et la veine porte à la veine centrolobulaire (Lapierre, 2010). Toutes destructions de la paroi des cellules endothéliales ou dilatations des lumières des sinusoïdes hépatiques suggèrent un empêchement du flux sanguin hépatique (Treinen-Moslen, 1996). Durant notre étude, toutes les sections des rats traités à la dose de 500 mg/kg présentent des sinusoïdes hépatiques dilatés.

6. Effet de l'administration subaiguë de deux mixtures sur le tissu rénal

Les lésions rénales induites par les plantes médicinales peuvent être réversibles ou définitives et intéresser le glomérule, le tubule et l'interstitium, ces deux dernières structures étant les plus fréquemment impliquées. Une atteinte vasculaire directe peut être parfois en cause et l'ischémie rénale qui en résulte peut générer des lésions tubulo-interstitielles secondaires (Bouzouita, 2016). Les atteintes rénales concernent principalement le glomérule en diminuant la filtration, mais également les tubules proximaux qui concentrent les toxiques du fait de leur forte activité d'absorption et de sécrétion. D'autre part leur forte teneur en cytochrome P450 leur permet de détoxifier ou d'activer les toxiques (Lu et al., 1992).

Parmi les cas de néphrotoxicité des PM publiés dans la littérature, on retrouve des lésions de nécrose tubulaire aigue, néphrite interstitielle aigue, syndrome de Fanconi acquis, pseudohyperaldostéronisme, hyperkaliémie, nécrose papillaire, fibrose interstitielle chronique, lithiases rénales et même des cas de cancers des voies urinaires (Figueredo et al., 2018).

Aucun changement histologique n'a été observé après l'administration subaiguë de l'extrait aqueux de M1 et M2 chez tous les groupes des rats traités à la dose de 500 mg/kg (Figure 56B).

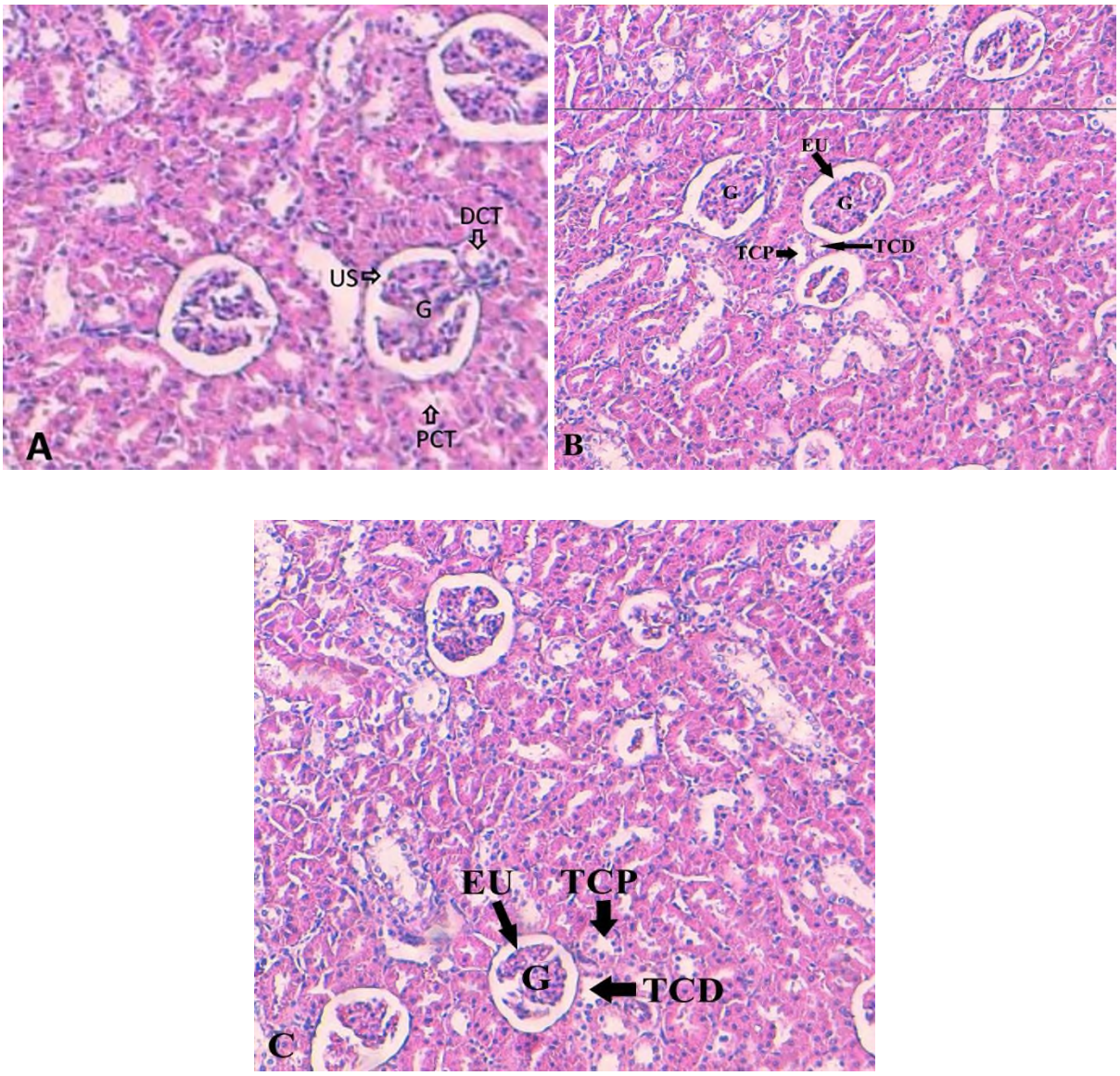


Figure 57: Effet de l'administration subaiguë de l'extrait aqueux de deux mixtures sur l'histologie du rein

A = Photomicrographies des sections rénales du groupe contrôle (coloré avec HES X10), B = Photomicrographies des sections rénales du groupe traités par M1 à 500 mg/kg (coloré avec HES X10), C = Photomicrographies des sections rénales du groupe traités par M2 à 500 mg/kg (coloré avec HES X10); EU = espace urinaire, G = Glomerule, TCD = Tube contourné distal, TCP = Tube contourné proximal.

CONCLUSION

ET

PERSPECTIVES

Le Maroc est réputé par une flore riche et variable, ceci explique en quelque sorte l'usage fréquent des plantes à des fins thérapeutiques, cosmétiques, gastronomiques … cependant la consommation irrationnelle, anarchique et non contrôlée des végétaux peut être responsable d'une intoxication qui peut engager le pronostic vital.

Lors de cette étude nous avons procédé, dans un premier temps, à une étude ethnopharamacologique par une enquête sur le terrain dans la région de Fès – Meknès chez 289 herboristes. Cette partie de l'étude nous a permis de révéler les caractéristiques sociodémographiques des herboristes (les distributeurs principaux des plantes et mixtures) et leurs connaissances sur les plantes médicinales. Ensuite, les indices ethnobotaniques étudiés durant notre enquête ont montré une grande richesse botanique de la région de Fès – Meknès, et une valorisation importante de quelques plantes médicinales. Nous avons déterminé les principales mixtures et plantes utilisées dans le traitement des maladies rénales tels que : *Herniaria glabra* L., *Zizyphus lotus* (L.) Lam., *Opuntia ficus – indica* (L.) Mill., *Zea mays* L., *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur., *Petroselinum sativum* Hoffm., *Chamaemelum nobile* (L.) All., *Rosmarinus officinalis* L. et *lavendula officinalis.* Nous avons découvert des nouvelles mixtures commercialisées par les herboristes, elles sont emballées et étiquetées sans aucune information sur les ingrédients végétales.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié les compositions chimiques de deux principales mixtures utilisées dans le traitement des maladies rénales par un criblage phytochimique et analyse par HPLC-DAD. Le criblage phytochimique de la mixture M1 a révélé la présence des tanins catéchiques, galliques, de flavonoïdes, d'alcaloïdes, de glycosides cardiaques et de Mucilage. Tandis que, la mixture M2 a montré la présence de tanins catéchiques, galliques, saponines, flavonoïdes, leucoanthocyanes, catéchols, coumarines, alcaloïdes, glycosides cardiaques et mucilages. L'analyse par HPLC – DAD de l'extrait aqueux de la mixture M1 a présenté l'existence d'acide gallique, acide coumarique, acide caféique et acide tannique. Alors que, la mixture M2 a montré la présence d'acide sinapique.

La dernière partie de notre étude consiste a évalué la toxicité aiguë et subaiguë chez les rats après l'administration orale de l'extrait aqueux de deux mixtures M1 et M2 à différentes doses de 300 mg/kg, 500 mg/kg, 2000 mg/kg, 6000 mg/kg et 10 ml/kg (dose équivalente à l'usage traditionnel). L'étude de la toxicité aiguë de deux mixtures M1 et M2 n'a présenté aucun changement statistiquement significatif de poids corporel, alors que, durant la toxicité subaiguë une diminution statistiquement significative a été observée. Concernant le poids relatif des

organes, une diminution statistiquement significative dans les reins, le foie et la rate après l'administration aiguë et subaiguë de deux mixtures M1 et M2. Pour des informations supplémentaires sur la toxicité non détectée par les paramètres précédents (poids corporel, comportement général, poids relatif des organes), des paramètres biochimiques et hématologiques ont été étudiés. L'administration aiguë et subaiguë d'extrait aqueux de deux mixtures a montré un changement statistiquement significatif des paramètres biochimiques tels que les paramètres sériques hépatiques (ALAT, ASAT, ALP), les paramètres sériques rénales (créatinine, urée, acide urique), les lipides (triglycérides, le cholestérol) et les électrolytes (phosphore, magnésium…). Relativement aux paramètres hématologiques, l'administration aiguë et subaiguë de l'extrait aqueux de deux mixtures a prouvé un changement statistiquement significatif dans les taux des leucocytes et érythrocytes, plaquettes, lymphocytes, monocytes, neutrophiles, éosinophiles et basophiles.

L'évaluation histopathologique du tissu hépatiques des rats après l'administration aiguë et subaiguë d'extrait aqueux de deux mixtures a révélé la présence des dilatations des sinusoïdes hépatiques, corps apoptotiques, infiltrats inflammatoires de type lymphocytaire, plasmocytaire, éosinophilique et neutrophilique. En outre, aucun changement structurel n'a été observé pour les voies biliaires, la veine et l'artère hépatique dans la région portale et aucune stéatose, fibrose, boue biliaire, hémosidérine n'étaient présents dans tous les groupes traités à différentes doses étudiées. Le tissu rénal n'a montré aucun changement structurel après l'administration aiguë et subaiguë d'extrait aqueux de deux mixtures.

Ce travail a présenté une première étude ethnopharmacologique réalisée dans la région de Fès-Meknès concernant les maladies rénales. Les études de la toxicité aiguë et subaiguë des mixtures de plantes prescrit par les herboristes ont prouvé une toxicité hématopoïétique, rénale et hépatique.

En perspectives, il serait intéressant :

- ✓ Sensibilisation de la population au niveau des lieux publiques par des affiches sur la toxicité des plantes médicinales
- ✓ Sensibilisation des patients au niveau des centre de santé sur les effets néfastes liés à l'utilisation de plantes médicinales
- ✓ Sensibilisation et renforcement des acteurs de la médecine traditionnelle en organisant des compagnes de sensibilisation auprès des herboristes.

- ✓ Assurer la sécurité dans l'utilisation de la phytothérapie, par le respect des techniques de cueillette, de conservation et de stockage ; et également par un contrôle de la qualité suivi et régulier à partir d'échantillons prélevés sur les étalages des herboristes.
- ✓ Impliquer les médias pour une diffusion plus large du message éducatif.
- ✓ Mener des études sur les aspects toxiques des plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel des maladies.
- ✓ Organiser des formations au profit des professionnels de la santé sur la toxicité des plantes médicinales.
- ✓ Mettre en place un cadre juridique organisant l'exercice de la médecine traditionnelle et de la profession d'herboriste. En basant sur : L'information, l'éducation, et la sensibilisation.
- ✓ Dans le cadre de l'information, il serait intéressant de mettre à la disposition des populations ou collectivités locales, des structures communautaires permanentes suffisamment informées sur l'utilisation des plantes médicinales afin de mieux assurer la vulgarisation et la promotion de cette connaissance au niveau des populations.
- ✓ Tandis que la formation des différents agents de la santé (Pharmaciens, Médecins, dentistes, infirmiers...), par l'intégration d'un module qui traiterait de la phytothérapie, faciliterait la prescription et encouragerait la collaboration entre ceux-ci et les tradithérapeutes.

BIBLIOGRAPHIE

Abdel-Zaher AO, Salim SY, Assaf MH, Abdel-Hady RH. (2005). Antidiabetic activity and toxicity of Zizyphus spina-christi leaves. *Journal of ethnopharmacology, 101*(1-3), 129-138.

Abdelhalim A, Aburjai T, Hanrahan J, Abdel-Halim H. (2017). Medicinal plants used by traditional healers in Jordan, the Tafila region. *Pharmacognosy magazine, 13*(Suppl 1), S95.

Abe F, Yamauchi T, Nagao T, Kinjo J, Okabe H, Higo H, Akahane H. (2002). Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. *Biological and Pharmaceutical Bulletin, 25*(11), 1485-1487.

Abouri M, El Mousadik A, Msanda F, Boubaker H, Saadi B, Cherifi K. (2012). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Tata Province, Morocco. *Int J Med Plants Res, 1*(7), 99-123.

Abu-Irmaileh BE, Afifi FU. (2003). Herbal medicine in Jordan with special emphasis on commonly used herbs. *Journal of ethnopharmacology, 89*(2-3), 193-197.

Achour S, Rhalem N, Khattabi A, Lofti H, Mokhtari A, Soulaymani A, Turcant A, Bencheikh RS. (2012). L'intoxication au Peganum harmala L. au Maroc: à propos de 200 cas. *Thérapie, 67*(1), 53-58.

Adeneye A, Ajagbonna O, Adeleke T, Bello S. (2006). Preliminary toxicity and phytochemical studies of the stem bark aqueous extract of Musanga cecropioides in rats. *Journal of ethnopharmacology, 105*(3), 374-379.

Adrie C, Pinsky M. (2000). The inflammatory balance in human sepsis. *Intensive care medicine, 26*(4), 364.

Al-Howiriny T, Al-Sohaibani M, El-Tahir K, Rafatullah S. (2003). Preliminary evaluation of the anti-inflammatory and anti-hepatotoxic activities of'parsley'petroselinum crispum in rats. *Journal of natural remedies, 3*(1), 54-62.

Al-Shabanah O, El-Hadiyah T, Al-Majed A. (2002). Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. *Scientia Pharmaceutica, 70*(2), 135-145.

Al-Snafi AE. (2016). MEDICAL IMPORTANCE OF ANTHEMIS NOBILIS (CHAMAEMELUM NOBILE)-A REVIEW.

Alechinsky-Yildiz L, Audenet F, Audouin M, Bensalah K, Billault C, Boissier R, Bosset P-O, Bruyère F, Champy C, Colin P (2018). *Urologie: Réussir les ECNi*. Elsevier Health Sciences.

Ali-Shtayeh MS, Yaniv Z, Mahajna J. (2000). Ethnobotanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology, 73*(1-2), 221-232.

Alimi H, Hfaiedh N, Bouoni Z, Sakly M, Rhouma KB. (2011). Evaluation of antioxidant and antiulcerogenic activities of Opuntia ficus indica f. inermis flowers extract in rats. *Environmental toxicology and pharmacology, 32*(3), 406-416.

Aljanaby AAJJ. (2013). Antibacterial activity of an aqueous extract of Petroselinum crispum leaves against pathogenic bacteria isolated from patients with burns infections in Al-najaf Governorate, Iraq. *Research on Chemical Intermediates, 39*(8), 3709-3714.

Allali H, Benmehdi H, Dib M, Tabti B, Ghalem S, Benabadji N. (2008). Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, *20*(4), 2701.

Alnamer R, Alaoui K, Bouidida EH, Benjouad A, Cherrah Y. (2012). Sedative and hypnotic activities of the methanolic and aqueous extracts of Lavandula officinalis from Morocco. *Advances in pharmacological sciences, 2012*.

Aloui S, Skhiri H, Ltaief A, Elmay M. (2010). An exceptional case of acute renal failure: is there a renal toxicity of Artemisia herba-alba? *Renal failure, 32*(8), 1009-1011.

Aouadhi S. (2010). Atlas de risques de la phytothérapie traditionnelle à l'étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. *Faculté de médecine de Tunis-Master spécialisé en toxicologie*.

Aremu OO, Tata CM, Sewani-Rusike CR, Oyedeji AO, Oyedeji OO, Nkeh-Chungag BN. (2018). Phytochemical composition, and analgesic and antiinflammatory properties of essential oil of Chamaemelum nobile (Asteraceae L All) in rodents. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 17*(10), 1939-1945.

Arnoczky SP, Cook JL, Carter T, Turner AS. (2009). Translational models for studying meniscal repair and replacement: what they can and cannot tell us. *Tissue Engineering Part B: Reviews, 16*(1), 31-39.

Arslan E, Sayin S, Demirbas S, Çakar M, Somak NG, Yesilkaya S, Saglam K. (2013). A case study report of acute renal failure associated with Nigella sativa in a diabetic patient. *J Integr Med, 11*(1), 64-66.

Awe EO, Banjoko SO. (2013). Biochemical and haematological assessment of toxic effects of the leaf ethanol extract of Petroselinum crispum (Mill) Nyman ex AW Hill (Parsley) in rats. *BMC complementary and alternative medicine, 13*(1), 75.

Bağcı Y. (2000). Ethnobotanical features of Aladağlar (Yahyalı, Kayseri) and its vicinity. *The Herb Journal of Systematic Botany, 7*(1), 89-94.

Bahmani M, Baharvand-Ahmadi B, Tajeddini P, Rafieian-Kopaei M, Naghdi N. (2016). Identification of medicinal plants for the treatment of kidney and urinary stones. *Journal of renal injury prevention, 5*(3), 129.

Bahmani M, Zargaran A, Rafieian-Kopaei M, Saki K. (2014). Ethnobotanical study of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in the Urmia, Northwest Iran. *Asian Pacific journal of tropical medicine, 7*, S348-S354.

Bamosa AO, Kaatabi H, Lebdaa FM, Elq A, Al-Sultanb A. (2010). Effect of Nigella sativa seeds on the glycemic control of patients with type 2 diabetes mellitus. *Indian J Physiol Pharmacol, 54*(4), 344-354.

Barkaoui M, Katiri A, Boubaker H, Msanda F. (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes in Chtouka Ait Baha and Tiznit (Western Anti-Atlas), Morocco. *Journal of ethnopharmacology, 198*, 338-350.

Barnes PM, Powell-Griner E, McFann K, Nahin RL (2004). *Complementary and alternative medicine use among adults: United States, 2002.* Communication présentée Seminars in integrative medicine.

Begum A, Sandhya S, Vinod KR, Reddy S, Banji D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora Rosmarinus officinalis (Lamiaceae). *Acta scientiarum polonorum Technologia alimentaria, 12*(1), 61-74.

Bellakhdar J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle.

Bellakhdar J (2006). *Plantes médicinales au Maghreb et soins de base: précis de phytothérapie moderne*. Eds Le Fennec.

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.

BENAISSA A (2011). *Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant synthétique et d'un tensioactif.* (thèse de doctorat en sciences, université de Constantine).

Benarba B. (2016). Medicinal plants used by traditional healers from South-West Algeria: An ethnobotanical study. *Journal of intercultural ethnopharmacology, 5*(4), 320.

Benarba B, Belabid L, Righi K, amine Bekkar A, Elouissi M, Khaldi A, Hamimed A. (2015). Ethnobotanical study of medicinal plants used by traditional healers in Mascara (North West of Algeria). *Journal of ethnopharmacology, 175*, 626-637.

Benayad Z, Martinez-Villaluenga C, Frias J, Gomez-Cordoves C, Es-Safi NE. (2014). Phenolic composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of extracts from Moroccan Opuntia ficus-indica flowers obtained by different extraction methods. *Industrial Crops and Products, 62*, 412-420.

Benkhnigue O, Ben Akka F, Salhi S, Fadli M, Douira A, Zidane L. (2014). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc). *J Anim Plant Sci, 23*(1), 3539-3568.

Benkhnigue O, Zidane L, Fadli M, Elyacoubi H, Rochdi A, Douira A. (2010). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta Botanica Barcinonensia, 53*, 191-216.

Benlamdini N, Elhafian M, Rochdi A, Zidane L. (2014). Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale du Haut Atlas oriental (Haute Moulouya). *Journal of applied biosciences, 78*(1), 6771-6787.

Benzakour G, BENKIRANE N, AMRANI M, OUDGHIRI M. (2011). Immunostimulatory potential of Aristolochia longa L. induced toxicity on liver, intestine and kidney in mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences, 3*(8), 214-222.

Betti AH, Stein AC, Dallegrave E, Wouters ATB, Watanabe TTN, Driemeier D, Buffon A, Rates SMK. (2012). Acute and repeated-doses (28 days) toxicity study of Hypericum polyanthemum Klotzsch ex Reichardt (Guttiferare) in mice. *Food and Chemical Toxicology, 50*(7), 2349-2355.

Bisset NG (1994). *Herbal drugs and phytopharmaceuticals: a handbook for practice on a scientific basis*. Medpharm Scientific Publishers.

Blank E. (2008). *La phytothérapie et les plantes médicinales*. Repéré à https://sites.google.com/site/medicinalesplantes/la-phytotherapie-et-les-plantes-medicinales

Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J (2000). *Herbal Medicine. Expanded Commission E monographs*. Integrative Medicine Communications.

Bobkova I, Chebotareva N, Kozlovskaya L, Shilov E. (2016). Edema in renal diseases–current view on pathogenesis. *Nephrology@ Point of Care, 2*(1), pocj. 5000204.

Borgi W, Recio M-C, Ríos J, Chouchane N. (2008). Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from Zizyphus lotus (L.) Lam. *South African Journal of Botany, 74*(2), 320-324.

Bosch-Fusté J, Riu-Aumatell M, Guadayol JM, Caixach J, López-Tamames E, Buxaderas S. (2007). Volatile profiles of sparkling wines obtained by three extraction methods and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) analysis. *Food Chemistry, 105*(1), 428-435.

Boskabady M, Mohsenpoor N, Takaloo L. (2010). Antiasthmatic effect of Nigella sativa in airways of asthmatic patients. *Phytomedicine, 17*(10), 707-713.

Bosquet C, Jaeger A. (2001). Thérapeutiques d'exception au cours des défaillances circulatoires et respiratoires d'origine toxique. *Reanimation, 10*(4), 402-411.

Boudıeb K, Kaki SAS-A, Oulebsir-Mohandkaci H, Bennacer A. (2018). Phytochemical Characterization and Antimicrobial Potentialities of Two Medicinal plants, Chamaemelum nobile (L.) All and Matricaria chamomilla (L.).

Boudjelal A, Henchiri C, Sari M, Sarri D, Hendel N, Benkhaled A, Ruberto G. (2013). Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of ethnopharmacology, 148*(2), 395-402.

Bouseta A, Collin S. (1995). Optimized Likens-Nickerson methodology for quantifying honey flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43*(7), 1890-1897.

Bouzouita K (2016). *Phytovigilance: enquête auprès des pharmaciens officinaux d'Oujda.*

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 4 e éd. *Tec & Doc/Lavoisier, Paris*, 279-281.

Cakir A. (2004). Essential oil and fatty acid composition of the fruits of Hippophae rhamnoides L.(Sea Buckthorn) and Myrtus communis L. from Turkey. *Biochemical systematics and ecology, 32*(9), 809-816.

Chauhan E, Aishwarya J. Nutraceuticals Potential of Petroselinum Crispum: A Review. *stress, 20*(25), 26.

Chavez-Santoscoy R, Gutierrez-Uribe J, Serna-Saldívar S. (2009). Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (Opuntia spp.) juices. *Plant Foods for Human Nutrition, 64*(2), 146-152.

Choi W-I, Lee S-G, Park H-M, Ahn Y-J. (2004). Toxicity of plant essential oils to Tetranychus urticae (Acari: Tetranychidae) and Phytoseiulus persimilis (Acari: Phytoseiidae). *Journal of economic entomology, 97*(2), 553-558.

Collar JE, Ladva S, Cairns TD, Cattell V. (2001). Red cell traverse through thin glomerular basement membranes. *Kidney international, 59*(6), 2069-2072.

Csupor D, Tóth N. (2012). Assessment report on Chamaemelum nobile (L.) All. *Committee on Herbal Medicinal Products*.

Cuoco G, Mathe C, Archier P, Chemat F, Vieillescazes C. (2009). A multivariate study of the performance of an ultrasound-assisted madder dyes extraction and characterization by liquid chromatography-photodiode array detection. *Ultrasonics sonochemistry, 16*(1), 75-82.

D'costa MR, Pais VM, Rule AD. (2019). Leave no stone unturned: defining recurrence in kidney stone formers. *Current opinion in nephrology and hypertension, 28*(2), 148-153.

Damabi NM, Moazedi A, Seyyednejad S. (2010). The role of α–and β–adrenergic receptors in the spasmolytic effects on rat ileum of Petroselinum crispum Latifolum (parsley). *Asian Pacific journal of tropical medicine, 3*(11), 866-870.

Dar SA, Ganai FA, Yousuf AR, Balkhi M-u-H, Bhat TM, Sharma P. (2013). Pharmacological and toxicological evaluation of Urtica dioica. *Pharmaceutical biology, 51*(2), 170-180.

De Broe ME, Gharbi MB, Elseviers M. (2016). Maremar, prevalence of chronic kidney disease, how to avoid over-diagnosis and under-diagnosis. *Nephrologie & therapeutique, 12*, S57-S63.

De Castro ML, Garcıa-Ayuso L. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica chimica acta, 369*(1-2), 1-10.

De Hoffmann E. (2000). Mass spectrometry. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*.

De Smet PA. (1993). An introduction to herbal pharmacoepidemiology. *Journal of ethnopharmacology, 38*(2-3), 189-195.

Debersac P, Heydel J-M, Amiot M-J, Goudonnet H, Artur Y, Suschetet M, Siess M-H. (2001). Induction of cytochrome P450 and/or detoxication enzymes by various extracts of rosemary: description of specific patterns. *Food and Chemical Toxicology, 39*(9), 907-918.

Decreased G. (2013). Definition and classification of CKD. *Kidney international, 3*, 19-62.

Dehkordi FR, Kamkhah AF. (2008). Antihypertensive effect of Nigella sativa seed extract in patients with mild hypertension. *Fundamental & clinical pharmacology, 22*(4), 447-452.

del Baño MJ, Lorente J, Castillo J, Benavente-García O, del Río JA, Ortuño A, Quirin K-W, Gerard D. (2003). Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during

the development of leaves, flowers, stems, and roots of Rosmarinus officinalis. Antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51*(15), 4247-4253.

Descamps-Latsch B, Witko-Sarsat V. (1996). Proinflammatory cytokines and phagocytic cells. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique, 36*(3), 310 -314.

Diallo A. (2005). Etude des plantes médicinales de Niafunké (Région de Tombouctou). Phytochimie de et pharmacologie de maerua crassifolia Forsk (Capparidaceae).

Dias PC, Foglio MA, Possenti A, de Carvalho JE. (2000). Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of Rosmarinus officinalis L. *Journal of ethnopharmacology, 69*(1), 57-62.

Didi O, 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 Savoir, 3*, 47-51.

Doan DD, Nguyen N, Doan H, Nguyen T, Phan T, Grabe M, Johansson R, Lindgren G, Stjernström N. (1992). Studies on the individual and combined diuretic effects of four Vietnamese traditional herbal remedies (Zea mays, Imperata cylindrica, Plantago major and Orthosiphon stamineus). *Journal of ethnopharmacology, 36*(3), 225-231.

Dohou R, Yamni K, Tahrouch S, Hassani LI, Badoc A, Gmira N. (2003). Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, Thymelaea lythroides. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux, 142*(1/4), 61-78.

Dok-Go H, Lee KH, Kim HJ, Lee EH, Lee J, Song YS, Lee Y-H, Jin C, Lee YS, Cho J. (2003). Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin,(+)-dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from Opuntia ficus-indica var. saboten. *Brain research, 965*(1-2), 130-136.

Dombrowicz D, Capron M. (2001). Eosinophils, allergy and parasites. *Current opinion in immunology, 13*(6), 716-720.

Eddouks M, Ajebli M, Hebi M. (2017). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in Daraa-Tafilalet region (Province of Errachidia), Morocco. *Journal of ethnopharmacology, 198*, 516-530.

Eddouks M, Lemhadri A, Zeggwagh N, Michel J. (2005). Potent hypoglycaemic activity of the aqueous extract of Chamaemelum nobile in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes research and clinical practice, 67*(3), 189-195.

Eddouks M, Maghrani M, Lemhadri A, Ouahidi M-L, Jouad H. (2002). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and

cardiac diseases in the south-east region of Morocco (Tafilalet). *Journal of ethnopharmacology, 82*(2), 97-103.

Eknoyan G, Lameire N, Barsoum R, Eckardt K-U, Levin A, Levin N, Locatelli F, Macleod A, Vanholder R, Walker R. (2004). The burden of kidney disease: improving global outcomes. *Kidney international, 66*(4), 1310-1314.

El-haci IA, Bekhechi C, Atik-Bekkara F, Mazari W, Gherib M, Bighelli A, Casanova J, Tomi F. (2014). Antimicrobial activity of Ammodaucus leucotrichus fruit oil from Algerian Sahara. *Natural product communications, 9*(5), 1934578X1400900533.

El-Hilaly J, Hmammouchi M, Lyoussi B. (2003a). Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). *Journal of ethnopharmacology, 86*(2), 149-158.

El-Hilaly J, Hmammouchi M, Lyoussi B. (2003b). Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). *Journal of ethnopharmacology, 86*(2-3), 149-158.

El Hilaly J, Israili ZH, Lyoussi B. (2004). Acute and chronic toxicological studies of Ajuga iva in experimental animals. *Journal of ethnopharmacology, 91*(1), 43-50.

El Rhaffari L, Zaid A. (2002). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet): Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée.

Eming SA, Krieg T, Davidson JM. (2007). Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology, 127*(3), 514-525.

Emmanuel MM, Didier DS. (2012). Traditional knowledge on medicinal plants use by ethnic communities in Douala, Cameroon. *European Journal of Medicinal Plants, 2*(2), 159.

Errajraji A, Ouhdouch F, El-Anssari N. (2010). Usage des plantes médicinales dans le traitement du diabète de type 2 au Maroc: Use of medicinal plants for type 2 diabetes treatment, in Morocco. *Médecine des maladies Métaboliques, 4*(3), 301-304.

Eshetu N, Afework M, Makonnen E, Debella A, Ergete W, Tolesssa T. (2016). Evaluation of the acute and sub-chronic toxic effects of aqueous leaf extracts of Artemisia afra on liver, kidney and some blood parameters in Wistar rats. *J Biomed Eng Sci, 1*, 1-9.

FADILI K, AMALICH S, N'DEDIANHOUA SK, Bouachrine M, MAHJOUBI M, EL HILALI F, ZAIR T. (2015). Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: Rosmarinus Officinalis et Thymus Satureioides [Polyphenols content and antioxidant activity of two species from Moroccan High Atlas: Rosmarinus officinalis and Thymus satureioides].

Fahim F, Esmat A, Fadel H, Hassan K. (1999). Allied studies on the effect of Rosmarinus officinalis L. on experimental hepatotoxicity and mutagenesis. *International journal of food sciences and nutrition, 50*(6), 413-427.

Fakchich J, Elachouri M. (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *Journal of ethnopharmacology, 154*(1), 76-87.

Farmakopeja F. (1951). (Pharmacopoea jugoslavica edition seconda, Ph. Jug II).,". *Medicinska knjiga", Beograd*.

Faruque MO, Uddin SB, Barlow JW, Hu X. (2018). Quantitative Ethnobotany of Medicinal Plants Used by Indigenous Communities in the Bandarban District of Bangladesh. *Frontiers in Pharmacology, 9*, 40.

Fauve R, Hevin M. (1998). Réaction inflammatoire et réactions immunitaires. *L'inflammation (JL Eurotext, éd.)*, 10-20.

Fennane M. (2004). Propositions de zones importantes pour les plantes au Maroc (ZIP Maroc). *Institut Scientifique, Rabat, Morocco*.

Figueredo MS, Schroeder FM, Soares RV, de Barros Helou CM. (2018). Adverse effects of medicinal herbs on the human kidney. *Revista de Medicina, 97*(1), 51-58.

Fortson WC, Tedesco FJ, Starnes EC, Shaw CT. (1985). Marked elevation of serum transaminase activity associated with extrahepatic biliary tract disease. *Journal of clinical gastroenterology, 7*(6), 502-505.

Frank C (1992). *Toxicologie: Données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque*. Masson.

Friedman J, Yaniv Z, Dafni A, Palewitch D. (1986). A preliminary classification of the healing potential of medicinal plants, based on a rational analysis of an ethnopharmacological field survey among Bedouins in the Negev Desert, Israel. *Journal of ethnopharmacology, 16*(2-3), 275-287.

Gadi D, Bnouham M, Aziz M, Ziyyat A, Legssyer A, Bruel A, Berrabah M, Legrand C, Fauvel-Lafeve F, Mekhfi H. (2012). Flavonoids purified from parsley inhibit human blood platelet aggregation and adhesion to collagen under flow. *Journal of Complementary and Integrative Medicine, 9*(1).

Gadi D, Bnouham M, Aziz M, Ziyyat A, Legssyer A, Legrand C, Lafeve FF, Mekhfi H. (2009). Parsley extract inhibits in vitro and ex vivo platelet aggregation and prolongs bleeding time in rats. *Journal of ethnopharmacology, 125*(1), 170-174.

Galati EM, Mondello MR, Giuffrida D, Dugo G, Miceli N, Pergolizzi S, Taviano MF. (2003). Chemical characterization and biological effects of Sicilian Opuntia ficus indica (L.) Mill. fruit juice: antioxidant and antiulcerogenic activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51*(17), 4903-4908.

Galati G, Lin A, Sultan AM, O'brien PJ. (2006). Cellular and in vivo hepatotoxicity caused by green tea phenolic acids and catechins. *Free Radical Biology and Medicine, 40*(4), 570-580.

Galati G, O'brien PJ. (2004). Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radical Biology and Medicine, 37*(3), 287-303.

Ghedira K. (2013). Zizyphus lotus (L.) Desf.(Rhamnaceae): jujubier sauvage. *Phytothérapie, 11*(3), 149-153.

Ghédira K, Goetz P. (2017). Herniaire: Herniaria glabra L.(Caryophyllaceae). *Phytothérapie, 15*(5), 300.

Giannini EG, Testa R, Savarino V. (2005). Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Canadian medical association journal, 172*(3), 367-379.

Gilani A, Aziz N, Khurram I, Chaudhary K, Iqbal A. (2001). Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of Nigella sativa seeds (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses. *JOURNAL-PAKISTAN MEDICAL ASSOCIATION, 51*(3), 115-119.

Gnanamani A, Sudha M, Deepa G, Sudha M, Deivanai K, Sadulla S. (2008). Haematological and biochemical effects of polyphenolics in animal models. *Chemosphere, 72*(9), 1321-1326.

González-Tejero M, Casares-Porcel M, Sánchez-Rojas C, Ramiro-Gutiérrez J, Molero-Mesa J, Pieroni A, Giusti M, Censorii E, De Pasquale C, Della A. (2008). Medicinal plants in the Mediterranean area: synthesis of the results of the project Rubia. *Journal of ethnopharmacology, 116*(2), 341-357.

Gouaz F. (2017). Les plantes toxiques au Maroc.

Guénet JL, Benavides F, Panthier J-J, Montagutelli X (2015). *Genetics of the Mouse*. Springer.

Güzel Y, Güzelşemme M, Miski M. (2015). Ethnobotany of medicinal plants used in Antakya: a multicultural district in Hatay Province of Turkey. *Journal of ethnopharmacology, 174*, 118-152.

Haddad PS, Depot M, Settaf A, Chabli A, Cherrah Y. (2003). Comparative study on the medicinal plants most recommended by traditional practitioners in Morocco and Canada. *Journal of herbs, spices & medicinal plants, 10*(3), 25-45.

Hajhashemi V, Ghannadi A, Sharif B. (2003). Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of Lavandula angustifolia Mill. *Journal of ethnopharmacology, 89*(1), 67-71.

Haloui M, Louedec L, Michel J-B, Lyoussi B. (2000). Experimental diuretic effects of Rosmarinus officinalis and Centaurium erythraea. *Journal of ethnopharmacology, 71*(3), 465-472.

Hammiche V, Maiza K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of ethnopharmacology, 105*(3), 358-367.

Hammiche V, Merad R, Azzouz M (2013). *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen*. Springer Paris.

Hassan F, El-Razek A, Hassan A. (2011). Nutritional value and hypoglycemic effect of prickly cactus pear (Opuntia ficus-indica) fruit juice in alloxan-induced diabetic rats. *Australian Journal of basic and applied sciences, 5*(10), 356-377.

Hayelom K, Mekbeb A, Eyasu M, Wondwossen E, Kelbesa U. (2012). Methanolic effect of Clerodendrum myricoides root extract on blood, liver and kidney tissues of mice. *African health sciences, 12*(4), 489-497.

Heinrich M, Chan J, Wanke S, Neinhuis C, Simmonds MS. (2009). Local uses of Aristolochia species and content of nephrotoxic aristolochic acid 1 and 2—A global assessment based on bibliographic sources. *Journal of ethnopharmacology, 125*(1), 108-144.

Herrero M, Plaza M, Cifuentes A, Ibáñez E. (2010). Green processes for the extraction of bioactives from Rosemary: Chemical and functional characterization via ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and in-vitro assays. *Journal of Chromatography A, 1217*(16), 2512-2520.

Hmamouchi M. (1998). Bibliographic research in the countries of the Maghreb. *Part II Medusa Newsletter, 2*, 7-12.

Hodgson E (2004). *A textbook of modern toxicology*. John Wiley & Sons.

Hogan SP, Rosenberg HF, Moqbel R, Phipps S, Foster PS, Lacy P, Kay AB, Rothenberg ME. (2008). Eosinophils: biological properties and role in health and disease. *Clinical & Experimental Allergy, 38*(5), 709-750.

Hultcrantz R, Glaumann H, Lindberg G, H: son Nilsson L. (1986). Liver investigation in 149 asymptomatic patients with moderately elevated activities of serum: aminotransferases. *Scandinavian journal of gastroenterology*, *21*(1), 109-113.

Hur Y-G, Yun Y, Won J. (2004). Rosmarinic acid induces p56lck-dependent apoptosis in Jurkat and peripheral T cells via mitochondrial pathway independent from Fas/Fas ligand interaction. *The Journal of Immunology*, *172*(1), 79-87.

Ibukunoluwa MR. (2017). In vivo anti-plasmodial activity and histopathological analysis of water and ethanol extracts of a polyherbal antimalarial recipe. *Journal of Pharmacognosy and phytotherapy*, *9*(6), 87-100.

Ivancheva S, Stantcheva B. (2000). Ethnobotanical inventory of medicinal plants in Bulgaria. *Journal of ethnopharmacology*, *69*(2), 165-172.

Jackman LM, Sternhell S (2013). *Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry: International Series in Organic Chemistry*. Elsevier.

Jiofack T, Fokunang C, Guedje N, Kemeuze V, Fongnzossie E, Nkongmeneck B-A, Mapongmetsem PM, Tsabang N. (2010). Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, *2*(3), 60-79.

Jodynis-Liebert J, Nowicki M, Murias M, Adamska T, Ewertowska M, Kujawska M, Piotrowska H, Konwerska A, Ostalska-Nowicka D, Pernak J. (2010). Cytotoxicity, acute and subchronic toxicity of ionic liquid, didecyldimethylammonium saccharinate, in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *57*(2-3), 266-273.

Jouad H, Eddouks M, Lacaille-Dubois MA, Lyoussi B. (2000). Hypoglycaemic effect of Spergularia purpurea in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, *71*(1-2), 169-177.

Jouad H, Haloui M, Rhiouani H, El Hilaly J, Eddouks M. (2001a). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez–Boulemane). *Journal of ethnopharmacology*, *77*(2), 175-182.

Jouad H, Haloui M, Rhiouani H, El Hilaly J, Eddouks M. (2001b). Ethnobotanical survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes, cardiac and renal diseases in the North centre region of Morocco (Fez–Boulemane). *Journal of ethnopharmacology*, *77*(2-3), 175-182.

Judith MD (2005). *Etude phytochimique et pharmacologique de Cassia nigricans Vahl (Caesalpiniaceae) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad.* (thèse de pharmacie).

Jungers P, Daudon M, Conort P (1999). *Lithiase rénale: diagnostic et traitement*. Flammarion Médecine-Sciences.

Kabbaj F, Meddah B, Cherrah Y, Faouzi E. (2012). Ethnopharmacological profile of traditional plants used in Morocco by cancer patients as herbal therapeutics. *Phytopharmacology, 2*(2), 243-256.

Kadir MF, Sayeed MSB, Shams T, Mia M. (2012). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by Bangladeshi traditional health practitioners in the management of diabetes mellitus. *Journal of ethnopharmacology, 144*(3), 605-611.

Kamgoui VK. (2004). La profession de tradipraticien et le particularisme de l'exercice illégal de la médecine. *Pharm. Med Trad Afr, 13*, 103-110.

Karie S, Launay-Vacher V, Deray G, Isnard-Bagnis C. (2010). Toxicité rénale des médicaments. *Nephrologie & therapeutique, 6*(1), 58-74.

Karras A, Hermine O. (2002). Syndrome d'activation macrophagique. *La revue de médecine interne, 23*(9), 768-778.

Katari S, Magnone M, Shapiro R, Jordan M, Scantlebury V, Vivas C, Gritsch A, McCauley J, Starzl T, Demetris A. (1997). Clinical features of acute reversible tacrolimus (FK 506) nephrotoxicity in kidney transplant recipients. *Clinical transplantation, 11*(3), 237.

Kim O-M, Kim M-K, Lee S-O, Lee K-R, Kim S-D. (1998). Antimicrobial effect of ethanol extracts from spices against Lactobacillus plantarum and Leuconostoc mesenteroides isolated from kimchi. *JOURNAL-KOREAN SOCIETY OF FOOD SCIENCE AND NUTRITION, 27*, 455-460.

König GM, Wright AD, Keller WJ, Judd RL, Bates S, Day C. (1998). Hypoglycaemic activity of an HMG-containing flavonoid glucoside, chamaemeloside, from Chamaemelum nobile. *Planta medica, 64*(07), 612-614.

Krenzelok E, Jacobsen T, Aronis J. (1996). Plant exposures: a state profile of the most common species. *Veterinary and human toxicology, 38*(4), 289-298.

Kreydiyyeh S, Usta J, Kaouk I, Al-Sadi R. (2001). The mechanism underlying the laxative properties of parsley extract. *Phytomedicine, 8*(5), 382-388.

Kumar B, Vijayakumar M, Govindarajan R, Pushpangadan P. (2007). Ethnopharmacological approaches to wound healing—exploring medicinal plants of India. *Journal of ethnopharmacology, 114*(2), 103-113.

Kumar K, Sharma S, Kumar A, Bhardwaj P, Barhwal K, Hota SK. (2017). Acute and sub-acute toxicological evaluation of lyophilized Nymphaea x rubra Roxb. ex Andrews rhizome extract. *Regulatory Toxicology and Pharmacology, 88*, 12-21.

Kumar KJ, Vijayan V. (2014). An overview of liquid chromatography-mass spectroscopy instrumentation.

Lapierre O. (2010). L'utilisation des graisses animales, un enjeu de développement durable. *Oléagineux, Corps gras, Lipides, 17*(1), 52-55.

Lapointe G (2004). *Notions de toxicologie*. Commission de la santé et de la sécurité du travail du Québec, Direction de ….

Larrey D. (1997). Hepatotoxicity of herbal remedies. *Journal of Hepatology, 26*, 47-51.

Lee M-H, Lin C-C. (2007). Comparison of techniques for extraction of isoflavones from the root of Radix Puerariae: Ultrasonic and pressurized solvent extractions. *Food Chemistry*, *105*(1), 223-228.

Leporatti ML, Ivancheva S. (2003). Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. *Journal of ethnopharmacology*, *87*(2-3), 123-142.

Levey AS, Coresh J, Bolton K, Culleton B, Harvey KS, Ikizler TA, Johnson CA, Kausz A, Kimmel PL, Kusek J. (2002). K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *American Journal of Kidney Diseases, 39*(2 SUPPL. 1).

Levey AS, De Jong PE, Coresh J, Nahas ME, Astor BC, Matsushita K, Gansevoort RT, Kasiske BL, Eckardt K-U. (2011). The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney international*, *80*(1), 17-28.

Lis-Balchin M, Hart S, Deans S, Eaglesham E. (1996). Comparison of the pharmacological and antimicrobial action of commercial plant essential oils. *Journal of herbs, spices & medicinal plants, 4*(2), 69-86.

Lo A-H, Liang Y-C, Lin-Shiau S-Y, Ho C-T, Lin J-K. (2002). Carnosol, an antioxidant in rosemary, suppresses inducible nitric oxide synthase through down-regulating nuclear factor-κB in mouse macrophages. *Carcinogenesis, 23*(6), 983-991.

Lu FC, Lu FC (1992). *Toxicologie: données générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque*. Masson.

Lukacs M (1990). *The phytochemical investigation of Anthemis nobilis L.* (Ph. D. thesis, Szent-Györgyi Albert Medical Universtiy, Szeged).

Luque-Garcıa J, De Castro ML. (2004). Ultrasound-assisted soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment: application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *Journal of Chromatography A, 1034*(1-2), 237-242.

MacLeod AJ, de Troconis NG. (1982). Volatile flavour components of mango fruit. *Phytochemistry, 21*(10), 2523-2526.

Mahmood A, Mahmood A, Shaheen H, Qureshi RA, Sangi Y, Gilani SA. (2011). Ethno medicinal survey of plants from district Bhimber Azad Jammu and Kashmir, Pakistan. *Journal of Medicinal Plants Research, 5*(11), 2348-2360.

Makino T, Ono T, Liu N, Nakamura T, Muso E, Honda G. (2002). Suppressive effects of rosmarinic acid on mesangioproliferative glomerulonephritis in rats. *Nephron, 92*(4), 898-904.

Manderfeld MM, Schafer HW, Davidson PM, Zottola EA. (1997). Isolation and identification of antimicrobial furocoumarins from parsley. *Journal of food protection, 60*(1), 72-77.

Mangena T, Muyima N. (1999). Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of Artemisia afra, Pteronia incana and Rosmarinus officinalis on selected bacteria and yeast strains. *Letters in applied microbiology, 28*(4), 291-296.

Mänttäri M, Tiula E, Alikoski T, Manninen V. (1995). Effects of hypertension and dyslipidemia on the decline in renal function. *Hypertension, 26*(4), 670-675.

Martin P. (2012). Proteinuria: pathophysiology and clinical implications. *Revue medicale suisse, 8*(330), 466-472.

Merzouki A, Ed-Derfoufi F, El Aallali A, Molero-Mesa J. (1997). Wild medicinal plants used by local Bouhmed population (Morocco). *Fitoterapia, 68*(5), 444-460.

Michael B, Yano B, Sellers RS, Perry R, Morton D, Roome N, Johnson JK, Schafer K. (2007). Evaluation of organ weights for rodent and non-rodent toxicity studies: a review of regulatory guidelines and a survey of current practices. *Toxicologic pathology, 35*(5), 742-750.

Mohammedi H, Idjeri-Mecherara S, Menaceur F, Azine K, Hassani A. (2018). Chemical Compositions of Extracted Volatile Oils of Ammodaucus leucotrichus L. Fruit from Different Geographical Regions of Algeria With Evaluation of its Toxicity, Anti-inflammatory and Antimicrobial Activities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21*(6), 1568-1584.

Moshiri M, Hamid F, Etemad L. (2016). Ricin toxicity: clinical and molecular aspects. *Reports of biochemistry & molecular biology, 4*(2), 60.

Mouderas F, Lahfa FB, Mezouar D, Benahmed NEH. (2019). Valorization and identification of bioactive compounds of a spice Ammodaucus leucotrichus. *Advances in Traditional Medicine*, 1-10.

Mouillé-Richard T (2014). *Utilisation du chardon-marie (Silybum marianum) dans les affections hépatiques chez les oiseaux et le furet: présentation de quelques cas cliniques.*

Moulin B, Peraldi M-N (2007). *Nephrologie*. Ellipses.

Mühlbauer R, Lozano A, Palacio S, Reinli A, Felix R. (2003). Common herbs, essential oils, and monoterpenes potently modulate bone metabolism. *Bone, 32*(4), 372-380.

Mukinda JT, Eagles PF. (2010). Acute and sub-chronic oral toxicity profiles of the aqueous extract of Polygala fruticosa in female mice and rats. *Journal of ethnopharmacology, 128*(1), 236-240.

Mukinda JT, Syce JA. (2007). Acute and chronic toxicity of the aqueous extract of Artemisia afra in rodents. *Journal of ethnopharmacology, 112*(1), 138-144.

Munchid K, Sadiq F, Tissent A. (2005). P214 Cytotoxicité De L'huile Essentielle De Rosmarinus Officinalis. *Transfusion Clinique et Biologique, 12*(S1), 5135-5136.

Muntner P, Coresh J, Smith JC, Eckfeldt J, Klag MJ. (2000). Plasma lipids and risk of developing renal dysfunction: the atherosclerosis risk in communities study. *Kidney international, 58*(1), 293-301.

Musabayane C. (2012). The effects of medicinal plants on renal function and blood pressure in diabetes mellitus. *Cardiovascular journal of Africa, 23*(8), 462.

Muthee J, Gakuya D, Mbaria J, Kareru P, Mulei CM, Njonge F. (2011). Ethnobotanical study of anthelmintic and other medicinal plants traditionally used in Loitoktok district of Kenya. *Journal of ethnopharmacology, 135*(1), 15-21.

Naesens M, Kuypers DR, Sarwal M. (2009). Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology, 4*(2), 481-508.

Naikade S, Meshram M. (2014). Ethno-Medicinal plants used for jaundice from Konkan region, Maharashtra, India. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention, 3*(12), 39-41.

Nakavuma JL, Matasyoh JC, Wagara IN, Kalema J, Alinaitwe L. (2016). Toxicity Studies on Anti-fungal Essential Oils Extracted from Selected Aromatic Plants from Mabira and Kakamega Forests, East Africa. *European Journal of Medicinal Plants, 14*(2).

Navarette S, Saussays C. (2011). Les interactions entre plantes et médicaments. *Thès d'exercice de Pharmacie. Grenoble: sn*.

Ncibi S, Othman MB, Akacha A, Krifi MN, Zourgui L. (2008). Opuntia ficus indica extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food and Chemical Toxicology, 46*(2), 797-802.

Netter FH. (2011). Atlas d'anatomie humaine 2ème édition. *Issy-Les-Moulineaux: Elsevier Masson*.

Neves JM, Matos C, Moutinho C, Queiroz G, Gomes LR. (2009). Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-os-Montes (northern of Portugal). *Journal of ethnopharmacology, 124*(2), 270-283.

Nikolova M, Evstatieva L, Nguyen TD. (2011). Screening of plant extracts for antioxidant properties. *Botanica Serbica, 35*(1), 43-48.

Nitzsche A, Tokalov SV, Gutzeit HO, Ludwig-Müller J. (2004). Chemical and biological characterization of cinnamic acid derivatives from cell cultures of lavender (Lavandula officinalis) induced by stress and jasmonic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(10), 2915-2923.

Nortier J, Pozdzik A, Roumeguere T, Vanherweghem J-L. (2015). Néphropathie aux acides aristolochiques («néphropathie aux herbes chinoises»). *Nephrologie & therapeutique, 11*(7), 574-588.

Novais M, Santos I, Mendes S, Pinto-Gomes C. (2004). Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *Journal of ethnopharmacology, 93*(2-3), 183-195.

Nowbandegani AS, Kiumarcy S, Rahmani F, Dokouhaki M, Khademian S, Zarshenas MM, Faridi P. (2015). Ethnopharmacological knowledge of Shiraz and Fasa in Fars region of Iran for diabetes mellitus. *Journal of ethnopharmacology, 172*, 281-287.

Núñez A, Bemelmans J, Maarse H. (1984). Isolation methods for the volatile components of grapefruit juice. Distillation and solvent extraction methods. *Chromatographia, 18*(3), 153-158.

O'Mahony R, Al-Khtheeri H, Weerasekera D, Fernando N, Vaira D, Holton J, Basset C. (2005). Bactericidal and anti-adhesive properties of culinary and medicinal plants against Helicobacter pylori. *World journal of gastroenterology, 11*(47), 7499.

OCDE (2018). *Essai n° 453 : Études combinées de toxicité chronique et de cancérogénèse*.

OECD-423. (2001). OECD Guideline For Testing Of Chemicals Acute Oral Toxicity–Acute Toxic Class Method Adopted.

OMS. (2002). Executif Médecine traditionnelle. *Rapport du Secrétariat*.

OMS. (2003). Médecine traditionnelle. *Centre des médias, aide mémoire*(135).

Onan E, PAYDAŞ S, KORKMAZ T, ERKOÇ M, BALAL M. (2015). Acute Kidney Injury Secondary to Renal Protective Agent Oil of Nigella sativa: Case Report. *Turkiye Klinikleri Journal of Nephrology, 10*(2), 50-52.

Ouammi L, Rhalem N, Aghandous R, Semllali I, Badri M, Jalal G, et al. (2009). Profil épidémiologique des intoxications au Maroc de 1980 à 2007. *Toxicologie Maroc, 1*, 8-13.

Ouédraogoa S, Somé N, Ouattara S, Kini FB, Traore A, Bucher B, Guissou IP. (2012). Acute toxicity and vascular properties of seed of Parkia biglobosa (JACQ) R. Br Gift (Mimosaceae) on rat aorta. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 9*(2), 260-265.

Ozenda P. (1991). Flore du Sahara. 3 ème édition. *CNRS, Paris. 662p*.

Pallet N, Rabant M, Xu-Dubois Y-C, LeCorre D, Mucchielli M-H, Imbeaud S, Agier N, Hertig A, Thervet E, Legendre C. (2008). Response of human renal tubular cells to cyclosporine and sirolimus: a toxicogenomic study. *Toxicology and applied pharmacology, 229*(2), 184-196.

Palmese MT, Manganelli REU, Tomei PE. (2001). An ethno-pharmacobotanical survey in the Sarrabus district (south-east Sardinia). *Fitoterapia, 72*(6), 619-643.

Penchev PI (2010). *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions.* (INPT).

Peyrin-Biroulet L, Barraud H, Petit-Laurent F, Ancel D, Watelet J, Chone L, Hudziak H, Bigard M-A, Bronowicki J-P. (2004). Hépatotoxicité de la phytothérapie: données cliniques, biologiques, histologiques et mécanismes en cause pour quelques exemples caractéristiques. *Gastroentérologie clinique et biologique, 28*(6-7), 540-550.

Phillips O, Gentry AH, Reynel C, Wilkin P, Galvez-Durand B. (1994). Quantitative ethnobotany and Amazonian conservation. *Conservation biology, 8*(1), 225-248.

Pierre M, Lis M (2016). *Secrets des plantes: pour se soigner naturellement*. Artémis éditions.

Popat A, Shear NH, Malkiewicz I, Stewart MJ, Steenkamp V, Thomson S, Neuman MG. (2001). The toxicity of Callilepis laureola, a South African traditional herbal medicine. *Clinical Biochemistry, 34*(3), 229-236.

Quezel P, Santa S, Schotter O. (1962). Nouvelle flore de l'Algerie et des regions desertiques meridionales-v. 1-2.

Rachid A, Rabah D, Farid L, Zohra SF, Houcine B, Nacéra B. (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the

North Western and South Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research, 6*(10), 2041-2050.

Radulescu C, Stihi C, Ilie M, Lazurcă D, Gruia R, Olaru OT, Bute OC, Dulama ID, Stirbescu RM, Teodorescu S. (2017). Characterization of Phenolics in Lavandula angustifolia. *Analytical Letters, 50*(17), 2839-2850.

Radulović NS, Genčić MS, Stojanović NM, Randjelović PJ, Stojanović-Radić ZZ, Stojiljković NI. (2017). Toxic essential oils. Part V: Behaviour modulating and toxic properties of thujones and thujone-containing essential oils of Salvia officinalis L., Artemisia absinthium L., Thuja occidentalis L. and Tanacetum vulgare L. *Food and Chemical Toxicology, 105*, 355-369.

Raja AS, Pourjabbar S, Ip IK, Baugh CW, Sodickson AD, O'Leary M, Khorasani R. (2019). Impact of a Health Information Technology–Enabled Appropriate Use Criterion on Utilization of Emergency Department CT for Renal Colic. *American Journal of Roentgenology, 212*(1), 142-145.

Randhawa PS, Saad RS, Jordan M, Scantlebury V, Vivas C, Shapiro R. (1999). CLINICAL SIGNIFICANCE OF RENAL BIOPSIES SHOWING CONCURRENT ACUTE REJECTION AND TACROLIMUS-ASSOCIATED TUBULAR VACUOLIZATION1. *Transplantation, 67*(1), 85-89.

Rankin JA. (2004). Biological mediators of acute inflammation. *AACN Advanced Critical Care, 15*(1), 3-17.

Rhiouani H, El-Hilaly J, Israili ZH, Lyoussi B. (2008). Acute and sub-chronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of Herniaria glabra in rodents. *Journal of ethnopharmacology, 118*(3), 378-386.

Rhiouani H, Settaf A, Lyoussi B, Cherrah Y, Hassar M. (1999). Action diurétique des saponines de Herniaria glabra chez le rat spontanément hypertendu. *Espérance médicale, 6*(47), 68-71.

Rombi M, Robert D (1998). *120 plantes médicinales: composition, mode d'action et intérêt thérapeutique:... de l'ail à la vigne rouge*. Alpen.

Rossi T, Melegari M, Bianchi A, Albasini A, Vampa G. (1988). Sedative, anti-inflammatory and anti-diuretic effects induced in rats by essential oils of varieties of Anthemis nobilis: a comparative study. *Pharmacological research communications, 20*, 71-74.

Rousselet M, Vignaud J, Hofman P, Chatelet F. (2005). Inflammation et pathologie inflammatoire (Chapitre 3). *Copyright AFECAP*, 1-75.

Rsaissi N, Kamili E, Bencharki B, Hillali L, Bouhache M. (2013). Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube "Ziziphus lotus (L.) Desf". *International Journal of Scientific & Engineering Research, 4*(9), 34-38.

Saderi H, Owlia P, Hosseini A, Semiyari H (2003). *Antimicrobial effects of chamomile extract and essential oil on clinically isolated Porphyromonas gingivalis from periodontitis.* Communication présentée III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants-Volume 6: Traditional Medicine and Nutraceuticals 680.

Schweizer M (1999). *Docteur Nopal: médecin du bon Dieu*. APB, Aloe plantes et beauté.

Sebaa A, Marouf A, Kambouche N, Derdour A. (2018). Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of Ammodaucus leucotrichus fruit from Algerian Sahara. *Oriental Journal of Chemistry, 34*(1), 519.

Sekkoum K, Cheriti A, Taleb S, Bourmita Y, Belboukhari N. (2011). Traditional phytotherapy for urinary diseases in Bechar district (south west of Algeria). *Electron J Environ Agric Food Chem, 10*(8), 2616-2622.

Sener G, Saçan Ö, Yanardag R, Ayanoglu-Dülger G. (2003). Effects of parsley (Petroselinum crispum) on the aorta and heart of STZ induced diabetic rats. *Plant Foods for Human Nutrition, 58*(3), 1-7.

Seyyednejad S, Maleki S, Damabi NM, Motamedi H. (2008). Antibacterial activity of Prunus mahaleb and Parsley (Petroselinum crispum) against some pathogen. *Asian J Biol Sci, 1*(1), 51-55.

Shafaghat A, Salimi F, Amani-Hooshyar V. (2012). Phytochemical and antimicrobial activities of Lavandula officinalis leaves and stems against some pathogenic microorganisms. *Journal of Medicinal Plants Research, 6*(3), 455-460.

Shamsuzzoha BS, Haering SA. (2007). Traditional Medicine. Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health.

Singh NP, Prakash A. (2011). Nephrotoxic potential of herbal drugs. *JIMSA, 24*(2), 79-81.

Singletary KW, Nelshoppen JM. (1991). Inhibition of 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA)-induced mammary tumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. *Cancer letters, 60*(2), 169-175.

Sinyinda S, Gramshaw J. (1998). Volatiles of avocado fruit. *Food Chemistry (United Kingdom)*.

Sireeratawong S, Lertprasertsuke N, Srisawat U, Thuppia A, Ngamjariyawat A, Suwanlikhid N, Jaijoy K. (2008). Acute and subchronic toxicity study of the water extract from Tiliacora triandra (Colebr.) Diels in rats. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, *30*(5).

Sofic E, Copra-Janicijevic A, Salihovic M, Tahirovic I, Kroyer G (2010). *Screening of medicinal plant extracts for quercetin-3-rutinoside (rutin) in Bosnia and Herzegovina*. na.

Soulaymani-Bencheikh R. (2010). Les plantes et la santé publique. *Publication officielle du Centre Anti Poison du Maroc*(N° 5 - 2ème trimestre), 2.

Srithi K, Balslev H, Wangpakapattanawong P, Srisanga P, Trisonthi C. (2009). Medicinal plant knowledge and its erosion among the Mien (Yao) in northern Thailand. *Journal of ethnopharmacology, 123*(2), 335-342.

Steinhubl SR. (2007). Platelets as mediators of inflammation. *Hematology/oncology clinics of North America, 21*(1), 115-121.

Stengel B, Simon P. (1999). Néphrotoxicité d'origine iatrogène, professionnelle ou environnementale.

Suksamrarn S, Suwannapoch N, Aunchai N, Kuno M, Ratananukul P, Haritakun R, Jansakul C, Ruchirawat S. (2005). Ziziphine N, O, P and Q, new antiplasmodial cyclopeptide alkaloids from Ziziphus oenoplia var. brunoniana. *Tetrahedron, 61*(5), 1175-1180.

Susplugas P, MONGOLD J, Carnat A, CAMILLIERI S, MASSE J, Taillade C, Serrano J. (1991). Activité diurétique d'un extrait lyophilisé de racines de Fœniculum vulgare Gaertn. Var. Dulce DC. *Plantes médicinales et phytothérapie, 25*(4), 163-169.

Taghizadeh M, Ostad SN, Asemi Z, Mahboubi M, Hejazi S, Sharafati-Chaleshtori R, Rashidi A, Akbari H, Sharifi N. (2017). Sub-chronic oral toxicity of Cuminum cyminum L.'s essential oil in female Wistar rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology, 88*, 138-143.

Tahraoui A, El-Hilaly J, Israili Z, Lyoussi B. (2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of ethnopharmacology, 110*(1), 105-117.

Tanira M, Shah A, Mohsin A, Ageel A, Qureshi S. (1996). Pharmacological and toxicological investigations on Foeniculum vulgare dried fruit extract in experimental animals. *Phytotherapy Research, 10*(1), 33-36.

Tankeu S, Vermaak I, Chen W, Sandasi M, Viljoen A. (2016). Differentiation between two "fang ji" herbal medicines, Stephania tetrandra and the nephrotoxic Aristolochia fangchi, using hyperspectral imaging. *Phytochemistry, 122*, 213-222.

Tao S, Fan Y, Wang W, Ma G, Liang L, Shi Q. (2007). Patterns of insertion and deletion in mammalian genomes. *Current genomics, 8*(6), 370-378.

Tawaha K, Alali FQ, Gharaibeh M, Mohammad M, El-Elimat T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry, 104*(4), 1372-1378.

Teixidor-Toneu I, Martin GJ, Ouhammou A, Puri RK, Hawkins JA. (2016). Comprehensive dataset of the medicinal plants used by a Tashelhit speaking community in the High Atlas, Morocco. *Data in brief, 8*, 516-519.

Teuscher E, Anton R, Lobstein A (2005). *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc.

Thapa B, Walia A. (2007). Liver function tests and their interpretation. *Indian Journal of Pediatrics, 74*(7), 663-671.

Tian C, Nan P, Chen J, Zhong Y. (2004). Volatile composition of Chinese Hippophae rhamnoides and its chemotaxonomic implications. *Biochemical systematics and ecology, 32*(4), 431-441.

Timbrell JA (2008). *Principles of biochemical toxicology*. CRC Press.

TM E-H, AA A-M. (2002). Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. *Scientia Pharmaceutica, 70*(2), 135-145.

Tognolini M, Barocelli E, Ballabeni V, Bruni R, Bianchi A, Chiavarini M, Impicciatore M. (2006). Comparative screening of plant essential oils: phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. *Life sciences, 78*(13), 1419-1432.

Treinen-Moslen M. (1996). Toxic responses of the liver. *Casarett & Doull's Toxicology: The basic science of poisons*.

Tunali T, Yarat A, Yanardag R, Özçelik F, Özsoy Ö, Ergenekon G, Emekli N. (1999). Effect of parsley (Petroselinum crispum) on the skin of STZ induced diabetic rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 13*(2), 138-141.

Urso V, Signorini MA, Tonini M, Bruschi P. (2016). Wild medicinal and food plants used by communities living in Mopane woodlands of southern Angola: Results of an ethnobotanical field investigation. *Journal of ethnopharmacology, 177*, 126-139.

Venturini N (2012). *CONTRIBUTION CHIMIQUE A LA DEFINITION DE LA QUALITE: EXEMPLES DES SPIRITUEUX DE MYRTE (MYRTUS COMMUNIS L.) ET DE CEDRAT (CITRUS MEDICA L.) DE CORSE*.

Verhelst D, Monge M, Meynard J-L, Fouqueray B, Mougenot B, Girard P-M, Ronco P, Rossert J. (2002). Fanconi syndrome and renal failure induced by tenofovir: a first case report. *American Journal of Kidney Diseases, 40*(6), 1331-1333.

Verma N, Trehan N. (2013). HPLC analysis of methanolic extract of herbs for quercetin content. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2*(1).

Viola H, Wasowski C, De Stein ML, Wolfman C, Silveira R, Dajas F, Medina J, Paladini A. (1995). Apigenin, a component of Matricaria recutita flowers, is a central benzodiazepine receptors-ligand with anxiolytic effects. *Planta medica, 61*(03), 213-216.

Wallace Ga (2002). *Cacti evolution and systematics. In : Cacti,Biology and Uses.* Univ of California Press.

Wasan KM, Najafi S, Wong J, Kwong M, Pritchard PH. (2001). Assessing plasma lipid levels, body weight, and hepatic and renal toxicity following chronic oral administration of a water soluble phytostanol compound, FM-VP4, to gerbils. *J Pharm Pharm Sci, 4*(3), 228-234.

Weill B, Batteux F (2003). *Immunopathologie et réactions inflammatoires*. De Boeck Supérieur.

Wong PY, Kitts DD. (2006). Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (Petroselinum crispum) and cilantro (Coriandrum sativum) extracts. *Food Chemistry, 97*(3), 505-515.

Yahiaoui N. (2012). Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxypatite et charbon actif. *Mémoire de Magister, Université de Tizi Ouzou*.

Yam MF, Ang LF, Ameer OZ, Salman IM, Aziz HA, Asmawi MZ. (2009). Anti-inflammatory and analgesic effects of Elephantopus tomentosus ethanolic extract. *Journal of acupuncture and meridian studies, 2*(4), 280-287.

Yassine D (2012). *Prise en charge de l'insuffisance rénale chronique terminale en urgence.* (Thèse Med, Maroc, Fès, 98).

Yeşilada E, Honda G, Sezik E, Tabata M, Goto K, Ikeshiro Y. (1993). Traditional medicine in Turkey IV. Folk medicine in the Mediterranean subdivision. *Journal of ethnopharmacology, 39*(1), 31-38.

Yousofi A, Daneshmandi S, Soleimani N, Bagheri K, Karimi MH. (2012). Immunomodulatory effect of Parsley (Petroselinum crispum) essential oil on immune cells: mitogen-

activated splenocytes and peritoneal macrophages. *Immunopharmacology and Immunotoxicology, 34*(2), 303-308.

Yuste C, Gutierrez E, Sevillano AM, Rubio-Navarro A, Amaro-Villalobos JM, Ortiz A, Egido J, Praga M, Moreno JA. (2015). Pathogenesis of glomerular haematuria. *World journal of nephrology, 4*(2), 185.

Zarga MA, Sabri S, Al-Aboudi A, Ajaz MS, Sultana N. (1995). New cyclopeptide alkaloids from Zizyphus lotus. *Journal of natural products, 58*(4), 504-511.

Zeggwagh AA, Lahlou Y, Bousliman Y. (2013). Enquete sur les aspects toxicologiques de la phytotherapie utilisee par un herboriste à Fes, Maroc. *The Pan African Medical Journal*.

Zeggwagh NA, Moufid A, Michel JB, Eddouks M. (2009). Hypotensive effect of Chamaemelum nobile aqueous extract in spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Hypertension, 31*(5), 440-450.

Zhu BT, Loder DP, Cai MX, Ho C-T, Huang M-T, Conney AH. (1998). Dietary administration of an extract from rosemary leaves enhances the liver microsomal metabolism of endogenous estrogens and decreases their uterotropic action in CD-1 mice. *Carcinogenesis, 19*(10), 1821-1827.

Ziyyat A, Legssyer A, Mekhfi H, Dassouli A, Serhrouchni M, Benjelloun W. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of ethnopharmacology, 58*(1), 45-54.

Zoral M, Ishikawa Y, Ohshima T, Futami K, Endo M, Maita M, Katagiri T. (2018). Toxicological effects and pharmacokinetics of rosemary (Rosmarinus officinalis) extract in common carp (Cyprinus carpio). *Aquaculture, 495*, 955-960.

Zou D-m, Brewer M, Garcia F, Feugang JM, Wang J, Zang R, Liu H, Zou C. (2005). Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutrition journal, 4*(1), 25.

Agenosov M, Kagan O, Kheyfets V. (2018). Features of urolithiasis in patients of advanced and senile age. *Advances in gerontology= Uspekhi gerontologii, 31*(3), 368-373.

ANNEXES

Annexe N°1 : Questionnaire pour les plantes et mixtures prescrites par les herboristes pour le traitement des maladies rénales

Questionnaire herboristes

Identification personnelle

Sexe : □ F □ M

L'âge : …….

Localité : □ Douar □ Village □ Ville

Province : …….

Ancienneté : □ <6 Ans □ Entre 7 et 12 Ans □ Entre 13 et 20 Ans □ > 20Ans **Niveau d'étude :** □ Illettré □ Primaire □ Secondaire □ Supérieur□

□ Education informelle □ Ecole coranique

Précisez nombre d'années ……

Questions du thème

1) **Est-ce que vous avez eu une formation sur ce métier ?** □Non □ Oui,
……
2) **Comment connaissez-vous la mixture et la dose nécessaires pour chaque maladie ?**
   - □Expériences □ Livres □ Emissions TV □ Emissions Radio
3) **Etes-vous membre d'une association d'herboristes ?** □ Non □ Oui, laquelle ?
…….
4) **Connaissez-vous que certaines plantes et mixtures peuvent être toxiques ? □oui □non**

Si oui,
les quelles ? :……..……

5) **Avez-vous des plantes et des mixtures pour les maladies rénales ? □oui □non**

Si oui, qu'elle sont les indications :

□ Diabète	□Cancer du rein	□ Insuffisance rénale
□ La pyélonéphrite aiguë	□Coliques néphrétiques	□ Lithiase rénale
□ Œdème	□ Hématurie	□ Infection urinaire

□ Autre (……..

6) **Quelles est la (les) mixture(s)la (les)plus vendue(s) pour traiter les maladies rénales et pour qu'elle indications ? (remplir les tableaux)**

7) **Les substances contenues dans le flacon et la date de péremption sont-elles toutes mentionnées sur l'étiquette ?**□Oui □Non

8) **Y a-t-il un client qui vous a rapporté la notion d'effets indésirables ou toxicité liés à la prise de cette mixture ? Si oui,**
lesquels ?……
……

9) **Avez-vous un registre de commerce pour vendre les produits de la pharmacopée traditionnelle ?**
□oui □non