

Résumé

Depuis la nuit des temps, l'être humain a eu recours aux plantes pour se nourrir, mais aussi pour se soigner contre les maladies. Grâce à sa richesse en ressources écologiques, la biodiversité végétale et ses utilisations thérapeutiques issues de la tradition ancienne Marocaine constituent une source importante de principes actifs à valoriser. À travers cette recherche, nous avons travaillé sur le recensement de diverses plantes utilisées dans le traitement de certaines maladies dans la province de Zagora. Une vérification expérimentale a été menée pour évaluer la toxicité, la composition phytochimique, l'activité antioxydante, l'activité antinociceptive, l'activité antidépressive et anxiolytique de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* (MEHM) ainsi que la détermination de certains mécanismes impliqués dans l'effet analgésique observé.

L'inventaire du savoir empirique local de la population a été réalisé à l'aide d'une enquête menée pendant deux ans dans la province de Zagora. L'analyse des résultats, obtenus à partir des fiches questionnaires, a permis de relever 83 espèces végétales qui se répartissent en 40 familles botaniques.

Les résultats des essais toxicologiques ont montré que l'administration de MEHM par voie orale n'a provoqué aucune mortalité ou de signes toxiques graves chez les souris, contrairement à l'administration par la voie intrapéritonéale qui induit une mortalité dose dépendante. Les résultats du criblage phytochimique ont montré la présence des composés phénoliques majoritaires notamment l'acide quinique, quercétine et l'acide gallique. Dans les tests de l'analgésie, l'extrait de la plante a atténué significativement la sensation douloureuse exprimée en pourcentage d'inhibition dans les différents modèles de nociception chimique et thermique notamment la plaque chauffante (64,69 %), test de l'acide acétique (59,09 %) et test au formaldéhyde (42,76 %). L'analyse des résultats de prétraitement des animaux par la naloxone ou l'atropine a montré une atténuation significative de l'effet nociceptif obtenu. Mettant en évidence l'implication des récepteurs opioïdiques et muscariniques dans les effets analgésiques observés. En outre, MEHM à la dose de 200 mg/kg a été capable de réduire le temps passé dans la partie éclairée de la boîte claire-sombre et dans les bras ouverts de croix surélevés. De la même manière les deux doses de l'extrait (100 et 200 mg/kg) ont été capables de réduire significativement le temps d'immobilité dans le test de la suspension caudale et dans le test de la nage forcée. Ces observations ont indiqué la présence d'une activité antidépressive et anxiolytique importantes de MEHM. L'ensemble de ces travaux neuropharmacologiques et comportementaux réalisés mériteraient d'être approfondis pour déterminer et pour isoler les métabolites secondaires responsables des effets observés ainsi que l'optimisation et l'incorporation des formes galéniques à base de cet extrait qui pourraient être efficace dans le traitement de la douleur, l'anxiété et la dépression chez l'Homme.

ملخص

منذ العصور القديمة، استخدم الإنسان النباتات كغذاء، وكعلاج لبعض الأمراض المختلفة. بالرغم من التطور العلمي والصناعي الحاصل فإن الاهتمام بالنباتات الطبية أخذ في الازدياد. لا تزال النباتات الطبية مصدرًا رئيسيًا للجزيئات الطبيعية النشطة التي يمكن استخدامها في صنع أدوية جديدة ذات فعالية أكبر وسمية أقل مقارنة بالأدوية المصنعة المستعملة حالياً. من خلال هذا البحث قمنا بداية بإنجاز دراسة استقصائية بهدف التعرف وتحديد مختلف النباتات الطبية المستعملة، من طرف الساكنة المحلية لمنطقة زاكورة، في علاج مجموعة من الأمراض. بعد ذلك قمنا بالتحقق التجريبي من سمية وفعالية مستخلص نبتة *Hyoscyamus muticus* وتأثيراته العصبية والسلوكية وكذا بعض الميكانيزمات المسؤولة عن فعاليته في تخفيف الألم.

بداية، قمنا بتجميع مختلف المعارف والوصفات الطبية المحلية المرتبطة بالاستعمالات الطبية بالمنطقة باستمارة خاصة ومكثنتنا هذه الدراسة الاحصائية من جرد 83 نوعا من النباتات المستخدمة محليا في علاج الام والالتهابات ومرض السكري وحصي الكلى. كما تم أيضا جرد بعض الأنواع النباتية المعروفة بخصائصها المهلوسة.

أظهرت اختبارات السمية لمستخلص النبتة أنها لا تتسبب في أي وفيات أو آثار جانبية خطيرة عند الفئران التي تناولت المستخلص عن طريق الفم، بينما يؤدي حقن المستخلص في الصفاق إلى ظهور بعض أعراض التسمم وكذا حدوث حالات وفاة عند استعمال جرعات كبيرة. من جانب آخر، أظهر التحليل الكيميائي النباتي باستخدام تقنية HPLC وتقنية المعايرة الكيميائية وجود كميات مهمة من المركبات الفينولية مثل حمض الكينيك والكيرسيتين وحمض الغاليك بالإضافة لوجود الفلافونويدات والالكالويدات. بينت اختبارات أخرى أنجزت على فئران المختبر ان المستخلص له قدرة على تخفيف الاحساس بالألم في اختبارات موثوقة ومختلفة للكشف عن الألم مثل اختبار الصفيحة الساخنة واختبار حمض الأسيتيك واختبار الفورمالين، تم الحصول على أعلى معدل تخفيف للألم في اختبار الصفيحة الساخنة بنسبة 64.69%. هذه النسبة أعلى من تلك المحصل عليها في اختبار حمض الأستيك (59.09%) واختبار الفورمالين (42.76%). رغبة منا في الكشف عن بعض الميكانيزمات المتدخل في المفعول المخفف للألم تم الحقن القبلي للفئران بالنالوكسون أو الأتروپين وبينت النتائج أن مفعول المستخلص تم كبحه بطريقة فعالة مما يؤكد فرضية تدخل المستقبلات الأفيونية والمسكارينية في التأثيرات المسكنة للألام الملاحظة مسبقا. تشير نتائجنا أيضا إلى أن مستخلص نبتة *Hyoscyamus muticus* بجرعة 200 مجم / كجم كان قادرا على تقليل السلوكيات المتعلقة بالمدة الذي يقضيها الحيوان في الجزء المضيء من الغرفة المضيئة في اختبار *Dark and light test* وفي الأذرع المفتوحة للاختبار *Elevated plus maze*. وبشكل مماثل، تسببت جرعات من المستخلص (100 و 200 مجم / كجم) في تقليل وقت عدم الحركة في اختبار *caudal suspension test* واختبار السباحة القسري *Forced swimming test*. بينت نتائج هذه الاختبارات، بشكل لا شك فيه، ان مستخلص هذه النبتة يتميز بمفعول قوي في التقليل من أعراض الاكتئاب والقلق لدى الفئران. ختاماً، مكنت هذه الدراسة من الكشف عن دور مستخلص نبتة *Hyoscyamus muticus* في تخفيف الألم والقلق والاكتئاب. تستحق نتائج هذه الدراسة الصيدلانية والعصبية والسلوكية التي تم إجراؤها مزيداً من التعمق وذلك بغرض تحديد وعزل المركب او المركبات الكيميائية النباتية المسؤولة عن التأثيرات الايجابية للنبتة بالإضافة إلى تحسين وإدماج هذا المستخلص كعلاج مكمل ضد الألم والقلق والاكتئاب لدى الإنسان.

N° d'ordre

.....



Université Hassan 1^{er}

Centre d'Études Doctorales en Sciences
et Techniques & Sciences Médicales

Faculté des Sciences et Techniques
Settat

THÈSE DE DOCTORAT

Pour l'obtention de grade de Docteur en sciences et techniques

Formation Doctorale : Biologie, Santé et Environnement « BSE »

Spécialité : Physiologie animale et Pharmacologie

Sous le thème

« Etude ethnopharmacologique et effets
neuropharmacologiques de l'extrait
méthanolique de *Hyoscyamus muticus* »

Présentée par :

Hicham BOUFOUS

Soutenu le lundi 09 mai 2022 à 10h30

A la Faculté des Sciences et Techniques de Settat devant le jury composé de :

Pr. AbdelKhalid ESSAMADI	PES	UH1, FST Settat	Président
Pr. Abderrahman MOUJAHID	PES	UH1, FST Settat	Rapporteur
Pr. Mounia OUDGHIRI	PES	UH2, FS Ain Shok Casablanca	Rapporteur
Pr. Mohammed LOUKID	PES	UCAM, FS Semlalia, Marrakech	Rapporteur
Pr. Chemseddoha GADHI	PES	UCAM, FS Semlalia, Marrakech	Examineur
Pr. Abderrahman CHAIT	PES	UCAM, FS Semlalia, Marrakech	Co-Directeur de thèse
Pr. Abdallah BAGRI	PES	UH1, FST Settat	Directeur de thèse

Année Universitaire : 2021/2022

Hicham BOUFOUS

« Etude ethnopharmacologique et effets
neuropharmacologiques de l'extrait méthanolique de
Hyoscyamus muticus »

Année, 2022
Formation doctorale Initiale : BSE

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciement



Arrivé au terme de cette thèse, il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma gratitude et mes remerciements à tous ceux qui, par leur enseignement, leur soutien et leurs conseils, m'ont aidée à sa réalisation.

En premier lieu, je tiens à exprimer particulièrement ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur Abdallah BAGRI de l'université Hassan 1^{er}, directeur de thèse, qui m'a fait l'honneur d'avoir veillé, dirigé et corrigé ce travail. Ses conseils pertinents, sa gentillesse, sa compétence académique, son support moral, son aide inestimable, son optimisme contagieux et sa compréhension pendant toute la période de réalisation de ce travail m'ont permis à élaborer ce travail. Je vous remercie pour tout ce temps qu'il a consacré pour la correction des articles. Merci, cher encadrant pour le courage que vous m'avez consacré dans mes recherches.

Je tiens particulièrement à remercier Monsieur le Professeur Abderrahmane CHAIT, co-directeur de cette thèse, je lui suis très reconnaissant de m'avoir bien accueilli dans son laboratoire et m'avoir intégré dans son équipe de recherche durant toute la période de la réalisation de ce travail. Je voudrais qu'il accepte ici mes remerciements, pour ses précieux conseils, ses encouragements et sa gentillesse.

Ma gratitude va également à Monsieur Abdelkhalid ESSAMADI, professeur à FST Settat, d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail en tant que président.

Je remercie Madame Mounia OUDGHRI, Professeur à l'Université Hassan 2 faculté des sciences Ain Shok Casablanca, qui a bien voulu accepter de participer au jury de cette thèse en tant que rapporteur, je voudrais qu'elle reçoive mes sincères remerciements.

Je remercie Monsieur Abderrahman MOUJAHID, Professeur à FST Settat, et Monsieur Mohammed LOUKID, professeur à l'UCAM, faculté des sciences Semlalia, Marrakech qui ont bien voulu accepter de participer au jury de cette thèse en tant que Rapporteurs. Pour le temps qu'ils y ont consacré, je voudrais qu'ils reçoivent mes remerciements.

Ensuite qu'il me soit permis d'adresser mes remerciements au professeur Chemseddoha GADHI, de l'UCAM, faculté des sciences Semlalia, Marrakech, d'avoir bien voulu faire partie du jury et tant qu'examinateur, veuillez accepter mes remerciements sincères.

Merci à tous les thésards et stagiaires que j'ai eu la chance de côtoyer au laboratoire au cours de cette période de préparation de la thèse.

Un grand merci à Monsieur Abderazzak regragui, responsable de l'animalerie de la faculté des sciences semlalia, université Caddi Ayad — Marrakech —

Mes sincères remerciements vont aux participants dans la réalisation de l'enquête ethnopharmacologique que j'ai menée dans la région de Zagora pendant la période 2014-2016.

Je souhaite également remercier mes parents, ma femme et mes frères. Merci pour votre soutien et pour vos encouragements durant cette période.

Je tiens à remercier ici toutes les personnes de la faculté des sciences Semlalia et de la faculté des sciences et techniques Settat qui ont contribué, d'une façon ou d'une autre, dans la réalisation de ce travail.

Enfin, au terme de ces remerciements, je souhaiterais rendre hommage aux membres de ma famille, et en particulier à ma mère, à mon père, ma femme, mes frères et sœurs pour leur soutien incommensurable tout au long de mes études et pour tout ce qu'ils m'apportent au quotidien.





À ma très chère mère

Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice depuis
Longtemps.

Ta prière et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de
ma vie. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes
les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me
consoler quand il fallait. Puisse Dieu tout puissant, te préserver et
t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À mon très cher père

Tu as toujours été mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce
travail traduise ma gratitude et mon affection.

À ma très chère épouse Maryame

Ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me
ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance.
Merci d'être toujours à mes côtés, par ta présence, par ton amour dévoué
et ta tendresse, pour donner du goût et du sens à notre vie de famille en
témoignage de mon amour, de mon admiration et de ma grande
affection, Je prie Dieu le Tout-Puissant pour qu'il te donne bonheur et
prospérité.

À mes très chers frères et sœurs

Mes frères Rachid et Redouane et mes sœurs Chadya, Fatima, et
Soumaya.

Puisse Dieu vous donner santé, bonheur, courage est surtout la réussite.

À ma grande famille

Je citerai en particulier ma tante Khaddouj, mes oncles ainsi que mes
cousins et cousines.

À mes chers amis

Youssef, Mohamed, Abdelmajid, Abdelhadi, Ahmed...

Fiche représentative de la thèse

		Affiliation
Nom et Prénom de l'auteur	Hicham BOUFOUS	Laboratoire de Biochimie et neuroscience, Faculté des sciences et techniques, Université Hassan 1 ^{er} , SETTAT.
Intitulé du travail	« Effets comportementaux et neuropharmacologiques de certains extraits de plantes marocaines »	
Directeur de thèse	Pr. Abdallah BAGRI -PES-	Laboratoire de Biochimie et neuroscience, Faculté des sciences et techniques, Université Hassan 1 ^{er} , Settata.
Co-directeur de thèse	Pr. Abderrahman CHAIT - PES-	Laboratoire de Pharmacologie, Neurobiologie et Comportement, Faculté des sciences SEMLALIA, Université CADI AYYAD – Marrakech.
Période de réalisation du travail de thèse	2014-2020.	
Lieux de réalisation de travail		Laboratoire de Biochimie et neuroscience, Faculté des sciences et techniques, Université Hassan 1 ^{er} , SETTAT.
		Laboratoire de Pharmacologie, Neurobiologie et Comportement, Faculté des sciences SEMLALIA, Université CADI AYYAD – Marrakech.

Résumé

Depuis la nuit des temps, l'être humain a eu recours aux plantes pour se nourrir, mais aussi pour se soigner contre les maladies. Grâce à sa richesse en ressources écologiques, la biodiversité végétale et ses utilisations thérapeutiques issues de la tradition ancienne Marocaine constituent une source importante de principes actifs à valoriser. À travers cette recherche, nous avons travaillé sur le recensement de diverses plantes utilisées dans le traitement de certaines maladies dans la province de Zagora. Une vérification expérimentale a été menée pour évaluer la toxicité, la composition phytochimique, l'activité antioxydante, l'activité antinociceptive, l'activité antidépressive et anxiolytique de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* (MEHM) ainsi que la détermination de certains mécanismes impliqués dans l'effet analgésique observé.

L'inventaire du savoir empirique local de la population a été réalisé à l'aide d'une enquête menée pendant deux ans dans la province de Zagora. L'analyse des résultats, obtenus à partir des fiches questionnaires, a permis de relever 83 espèces végétales qui se répartissent en 40 familles botaniques.

Les résultats des essais toxicologiques ont montré que l'administration de MEHM par voie orale n'a provoqué aucune mortalité ou de signes toxiques graves chez les souris, contrairement à l'administration par la voie intrapéritonéale qui induit une mortalité dose dépendante. Les résultats du criblage phytochimique ont montré la présence des composés phénoliques majoritaires notamment l'acide quinique, quercétine et l'acide gallique. Dans les tests de l'analgésie, l'extrait de la plante atténue significativement la sensation douloureuse exprimée en pourcentage d'inhibition dans les différents modèles de nociception chimique et thermique notamment la plaque chauffante (64,69 %), test de l'acide acétique (59,09 %) et test au formaldéhyde (42,76 %). L'analyse des résultats de prétraitement des animaux par la naloxone ou l'atropine a montré une atténuation significative de l'effet nociceptif obtenu. Mettant en évidence l'implication des récepteurs opioïdiques et muscariniques dans les effets analgésiques observés. En outre, MEHM à la dose de 200 mg/kg a été capable de réduire le temps passé dans la partie éclairée de la boîte claire-sombre et dans les bras ouverts de croix surélevés. De la même manière les deux doses de l'extrait (100 et 200 mg/kg) ont été capables de réduire significativement le temps d'immobilité dans le test de la suspension caudale et dans le test de la nage forcée. Ces observations ont indiqué la présence d'une activité antidépressive et anxiolytique importantes de MEHM. L'ensemble de ces travaux

neuropharmacologiques et comportementaux réalisés mériteraient d'être approfondis pour déterminer et pour isoler les métabolites secondaires responsables des effets observés ainsi que l'optimisation et l'incorporation des formes galéniques à base de cet extrait qui pourraient être efficace dans le traitement de la douleur, l'anxiété et la dépression chez l'Homme.

Abstract

Ever since ancient times, humans have used plants as food likewise to treat various diseases. Herbal extracts are still a paramount source of active metabolites that can be used in the exploration of new medicine. The main goals of this study were to survey the principal médécinal plants used by population of Zagora and to evaluate the toxicity and neuropharmacological effects of the methanolic extract of *Hyoscyamus muticus* (MEHM), a plant used in the treatment of pain and anxiety disorders.

The inventory of local empirical knowledge of the population was carried out using an ethnopharmacological survey conducted during two years in the province. A total of 83 plants distributed into 40 families had found to be used by the population of Zagora for the treatment of pain, inflammatory, diabetes and urolithiasis.

Acute toxicity study indicated that MEHM is not toxic when administered by the oral route at the dose of 2000 mg.kg⁻¹, in contrast to the intraperitoneal route. Phytochemical screening study showed the presence of various phenolic compounds including quinic acid, quercetin and gallic acid. In analgesia tests, the plant extract was significantly able to inhibit pain sensation in different models of nociception, particularly in the hot plate, acetic acid, and formaldehyde tests. The maximum inhibition rate recorded in the hot plate test is estimated at 64, 69%. This percentage was higher than previous values that obtained in the writhing test (59,09%) and formalin test (42,76%).

The pretreatment with naloxone or atropine attenuates remarkably the analgesic effect obtained in different anagesic tests which confirms the hypothesis of the involvement of opioidergic and muscarinic receptors. Moreover, the plant extract at the dose of 200 mg/kg was able to reduce the parameters related to the time spent in the illuminated part of the dark light box and in the open arms of the elevated cross. Equally, the extract at the doses of 100 and 200 mg/kg, exhibit an antidepressant activity in the caudal suspension and forced swimming test. Therefore, our extract possesses an importante anxiolytic and antidepressant activity. The resultats of the present study further confirm some of traditional uses of this *Hyoscyamus muticus* for the treatment of the pain and behavioural disorders. These findings merit to be subjected to other further bioactivity and phytochemical studies. To isolate the secondary metabolites responsible for the analgesic, antidepressant, and anxiolytic effects.

خلاصة

منذ العصور القديمة، استخدم الإنسان النباتات كغذاء وعلاج للأمراض المختلفة وعلى الرغم من التطور العلمي والصناعي فإن الاهتمام بالنباتات الطبية أخذ في الازدياد. في عصرنا الحالي تعتبر النباتات الطبية مصدرًا رئيسيًا للجزيئات الطبيعية النشطة والتي يمكن استخدامها في صنع أدوية جديدة ذات فعالية أكبر وسمية أقل من الأدوية المستعملة حالياً. من خلال هذا البحث قمنا بداية بإنجاز دراسة استقصائية تهدف للتعرف وتحديد النباتات الطبية المستعملة في علاج مجموعة من الأمراض من طرف الساكنة المحلية لمنطقة زاكورة، بعد ذلك قمنا بالتحقق التجريبي من سمية وفعالية المستخلص الميثانولي لنبته تسمى *Hyoscyamus muticus* وتأثيراته العصبية والسلوكية وكذا بعض الميكانيزمات المسؤولة عن فعاليته في تخفيف الألم لدى فئران المختبر. في بداية هذا العمل، قمنا بتجميع مختلف المعارف والوصفات الطبية المحلية المرتبطة بالاستعمالات الطبية بمنطقة زاكورة (الجنوب الشرقي للمملكة) ومكنتنا هذه الدراسة الاحصائية من جرد 83 نوعا من النباتات الطبية المستخدمة في الطب التقليدي المحلي ضد الالام والالتهابات والسكري وحصى الكلى بالإضافة للنباتات المعروفة بخصائصها المهلوسة.

أظهرت اختبارات السمية لمستخلص النبتة أنها لا تسبب في أي وفيات أو أثار جانبية خطيرة لدى الفئران التي تناولت المستخلص عن طريق الفم، بينما يؤدي حقن المستخلص الى ظهور بعض أعراض التسمم وكذا حالات وفاة عند استعمال جرعات كبيرة. من جانب اخر، أظهر الفحص الكيميائي باستخدام تقنية *HPLC* وتقنية المعايرة الكيميائية وجود كميات مهمة من المركبات الفينولية مثل حمض الكينيك والكيرسيتين وحمض الغاليك بالإضافة لوجود الفلافونويدات. كما بينت اختبارات اخرى أنجزت على حيوانات المختبر ان المستخلص له القدرة على تخفيف الاحساس بالألم في اختبارات متعددة وذات مصداقية علمية كبيرة في الكشف عن الألم مثل اختبار الصفيحة الساخنة واختبار حمض الأسيتيك واختبار الفورمالديهايد. تم الحصول على أعلى معدل تخفيض للألم في اختبار الصفيحة الساخنة بنسبة 64.69%. هذه النسبة أعلى من تلك المحصل عليها في اختبار حمض الأسيتيك (59.09%) واختبار الفورمالديهايد (42.76%). للكشف عن بعض الميكانيزمات المتدخلة في المفعول المخفف للألام تم الحقن القلبي للفئران بالنالوكسون أو الأتروبين وبينت النتائج أن مفعول المستخلص تم إضعافه مما يؤكد فرضية تدخل المستقبلات الأفيونية والمسكارينيكية في التأثيرات المسكنة للألام الملاحظة في التجارب السابقة. تشير نتائجنا أيضًا إلى أن مستخلص نبتة *H. muticus* بجرعة 200 مجم / كجم كان قادرًا على تقليل السلوكيات المتعلقة بالوقت الذي يقضيه الحيوان في الجزء المضيء من الغرفة المضيئة في اختبار وكذا زيادة مدة بقاء الفئران في الأذرع المفتوحة للجهاز المستعمل في اختبار *Elevated plus maze*. وبشكل مماثل، تسببت جرعات من المستخلص (100 و 200 مجم / كجم) في تقليل وقت عدم الحركة الفئران في اختبار *caudal suspension test* واختبار السباحة القسري *Forced swimming test*. من خلال هذه الملاحظات التجريبية يتبين أن مستخلص هذه النبتة يلعب دورًا مهمًا في تقليل الاكتئاب والقلق لدى الفئران.

ختامًا، مكنت هذه الدراسة من الكشف عن دور مستخلص نبتة *Hyoscyamus muticus* في تخفيف الألم والقلق والاكتئاب. تستحق نتائج هذه الدراسة الصيدلانية والعصبية والسلوكية التي تم إجراؤها مزيدا من التعمق وذلك بغرض تحديد وعزل المركبات الكيميائية النباتية المسؤولة عن التأثيرات الايجابية للنبتة بالإضافة إلى تحسين وإدماج هذا المستخلص كعلاج مكمل للألم والقلق والاكتئاب لدى الإنسان.

Sommaire

Fiche représentative de la thèse.....	6
Résumé.....	7
Abstract	9
خلاصة.....	10
Sommaire	11
Liste des publications et communications.....	20
Liste des figures	22
Liste des tableaux	26
Liste des abréviations	27
Introduction générale.....	30
Les objectifs et hypothèses spécifiques de la présente étude	33
Première partie : Étude ethnopharmacologique.....	35
1. Introduction.....	35
2. Données générales et régionales	36
2.1 Données générales sur l'ethnopharmacologie.....	36
2.1.1 Définition	36
2.1.2 Les objectifs de l'ethnopharmacologie	36
2.1.3 Méthodologie de recherche en ethnopharmacologie.....	37
2.1.4 L'importance des plantes médicinales au Maroc	40
2.1.4.1 Définition d'une plante médicinale.....	40
2.1.4.2 Diversité et utilisation des plantes médicinales (PMs)	40
2.2 Données géographiques, climatiques, économiques, et démographiques sur le lieu de l'enquête	41
2.2.1 Données géographiques.....	41
2.2.2 Données climatiques de la zone d'étude	42
2.2.3 Données sur la population locale	46
2.2.4 Données sur la santé dans la province de Zagora.....	48
3. Méthodes.....	48
3.1 Description de l'enquête ethnopharmacologique.....	48

3.2	Traitement des données collectées	49
3.3	Les paramètres quantitatifs.....	49
3.3.1	Valeur d'usage ou « Use value » (UV).....	49
3.3.2	Valeur d'usage familiale ou « Family use value » (VUF).....	50
3.3.3	Niveau de fidélité (NF)	50
3.4	Critères de sélections des espèces médicinales	50
4.	Résultats.....	51
4.1	Données collectées sur les profils des participants	51
4.1.1	La tranche d'âge et le sexe des participants	51
4.1.2	Niveau d'études des participants.....	52
4.1.3	Source d'obtention des PMs utilisées.....	52
4.1.4	Raisons de l'utilisation et efficacité des PMs.....	53
4.1.5	Diversité des familles de PMs recensées.....	55
4.1.6	Objectifs d'utilisation des PMs par les participants	55
4.1.7	Parties de PMs utilisées dans la préparation des remèdes.....	56
4.1.8	Méthodes de préparation des remèdes	56
4.1.9	Durée de traitement par les remèdes	56
4.1.10	. Données sur la toxicité	57
4.2	Résultats des analyses quantitatives	58
4.2.1	La valeur d'usage (Vu) ou use value (UV)	58
4.2.2	Niveau de fidélité (NF)	58
4.2.3	Valeur d'usage familiale (Family use value) « VuF ».....	60
4.3	Liste des plantes médicinales utilisées par les participants.....	61
5.	Discussion	71
6.	Conclusion	76
Deuxième partie : Étude phytochimique et activité antioxydante.....		79
Chapitre 1 : Généralités.....		79
1.	Données générales sur <i>Hyoscyamus muticus</i>	79
1.1	Description botanique de l'espèce <i>Hyoscyamus muticus</i>	79
1.2	Répartition géographique de <i>Hyoscyamus muticus</i>	80
1.3	Histoire de l'utilisation traditionnelle de <i>Hyoscyamus muticus</i>	81
1.4	Métabolites secondaires identifiées dans de la plante	81
2.	Généralités sur l'activité antioxydante.....	83

2.1	Les espèces réactives de l'oxygène (EROs) ou ROS	83
2.2	Les antioxydants naturels	85
2.2.1	Définition	85
2.2.2	Classification des antioxydants naturels	85
2.2.2.1	Les AOX primaires	85
2.2.2.2	Les AOX secondaires	86
2.2.2.2.1	Les Tocophérols	86
2.2.2.2.2	L'acide ascorbique ou la vitamine C	87
2.2.2.2.3	Les polyphénols	87
2.2.2.2.4	Les flavonoïdes	89
Chapitre 2 : Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait de <i>Hyoscyamus muticus</i>		91
1.	Introduction.....	91
2.	Matériel et méthodes.....	92
2.1	Préparation du matériel végétal.....	92
2.2	Dosage des composés phénoliques totaux par la colorimétrie.....	93
2.2.1	Principe de la méthode	93
2.2.2	Mode opératoire	94
2.2.3	Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique.....	95
2.3	Dosage des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium.....	95
2.3.1	Principe de la méthode	95
2.3.2	Mode opératoire	96
2.3.3	La gamme d'étalonnage de la catéchine	96
2.4	Dosages des tanins par la vanilline	96
2.4.1	Principe.....	96
2.4.2	Mode opératoire	97
2.4.3	La gamme d'étalonnage de catéchine	98
2.5	Chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) ou HPLC	98
2.5.1	Principe de la technique	98
2.5.2	Mode opératoire	99
2.6	Evaluation de l'activité antioxydante.....	100
2.6.1	Test de piégeage du radical DPPH.....	100
2.6.1.1	Principe	100
2.6.1.2	Protocole expérimental	101

2.6.2	Test de pouvoir réducteur.....	102
2.6.2.1	Principe	102
2.6.2.2	Protocole expérimental	102
3.	Résultats.....	103
3.1	Rendement de l'extraction par Soxhlet	103
3.2	Etude phytochimique de l'extrait méthanolique de <i>H. muticus</i>	103
3.2.1	Analyses quantitatives.....	103
3.2.1.1	Evaluation de la teneur en polyphénols totaux	103
3.2.1.2	Evaluation de la teneur en Flavonoïdes	103
3.2.1.3	Evaluation de la teneur des tannins.....	103
3.2.2	Analyse de la composition moléculaire de l'extrait MEHM.....	104
3.3	Résultats de l'activité antioxydante.....	107
4.	Discussion	107
5.	Conclusion	110

Troisième partie : Etude de la toxicité aiguë et de l'activité antinociceptive.....	112
--	------------

Chapitre 1 : Généralités.....	112
1. La douleur	112
1.1 Définition	112
1.2 Les composantes de la douleur.....	113
1.3 Types de douleur	114
1.3.1 La classification basée sur le plan clinique	114
1.3.2 La classification basée sur le plan neurophysiologique	114
1.3.2.1 La douleur aiguë	114
1.3.2.2 La douleur chronique	115
1.3.2.3 La douleur nociplastique.....	116
2. La nociception.....	116
2.1 Définition	116
2.2 Les différents types des nocicepteurs.....	116
2.2.1 Les mécanocicepteurs	117
2.2.2 Les nocicepteurs polymodaux.....	118
2.3 Mécanisme d'activation des nocicepteurs.....	118
2.4 Transduction des messages douloureux	119

2.4.1	Les fibres mécanosensibles A δ et A β	119
2.4.2	Les fibres nociceptives A δ et C.....	119
2.4.2.1	Les fibres A δ	119
2.4.2.2	Les fibres C.....	119
2.4.3	Les sites de projection des fibres nociceptives au niveau spinal.....	120
2.5	Les voies de la douleur.....	120
2.6	Les structures impliquées dans la douleur.....	122
2.6.1	La formation réticulée bulbaire.....	122
2.6.2	Le Cortex cérébral.....	123
2.6.3	Le thalamus.....	123
2.6.4	L'aire parabrachiale et la substance grise périaqueducale.....	123
2.7	Traitement médicamenteux de la douleur.....	123
3.	L'inflammation.....	124
3.1	Généralités sur l'inflammation.....	124
3.2	Les médiateurs de l'inflammation.....	125
3.2.1	Les médiateurs moléculaires de l'inflammation.....	125
3.2.1.1	L'histamine.....	125
3.2.1.2	Les cytokines.....	126
3.2.1.3	La substance P.....	126
3.2.1.4	Les eicosanoïdes.....	126
3.2.1.5	Les prostaglandines.....	127
3.3	Les plantes médicinales et l'inflammation.....	127
3.3.1	Inhibition des 15 - Lipoxygénases (LOX).....	128
3.3.2	Inhibition de la cyclooxygénase (COX).....	129
3.3.3	L'inhibition de l'oxyde nitrique (NO).....	129
3.3.4	Inhibition de la phospholipase A2 (PLA2).....	130
3.3.5	Inhibition de cytokines pro-inflammatoires.....	130
3.3.6	Inhibition de la libération d'histamine.....	130
Chapitre 2 : Etude expérimentale de l'effet neuropharmacologique de <i>Hyoscyamus muticus</i>		132
1.	Introduction.....	132
2.	Matériel et méthode.....	132
2.1	Les animaux et substances chimiques utilisées.....	132
2.1.1	Les animaux.....	132

2.1.2	Les solutions et les médicaments utilisés.....	133
2.2	Etude de la toxicité aiguë	134
2.2.1	Toxicité aiguë par voie orale.....	134
2.2.2	La toxicité aiguë par voie intrapéritonéale.....	135
2.2.3	Détermination de la dose létale (DL ₅₀) de l'extrait.....	136
2.3	Etude de l'activité analgésique de l'extrait	137
2.3.1	Test de la plaque chauffante.....	137
2.3.1.1	Principe	137
2.3.1.2	Protocole expérimental	137
2.3.2	Test de contorsions abdominales (writhing test).....	139
2.3.2.1	Principe	139
2.3.2.2	Protocole expérimental	140
2.3.3	Test au Formol « Formalin test ».....	141
2.3.3.1	Principe	141
2.3.3.2	Protocole expérimental	141
2.4	Etude de certains mécanismes impliqués	142
2.4.1	Étude de l'implication des récepteurs opioïdergique	142
2.4.2	Étude de l'implication des récepteurs muscarinique	142
3.	Résultats.....	143
3.1	Résultats de l'évaluation de la toxicité aiguë.....	143
3.1.1	Toxicité aiguë par voie orale.....	143
3.1.2	Toxicité aiguë par voie intrapéritonéale.....	143
3.2	Résultats de l'activité analgésique de l'extrait.....	145
3.2.1	Résultats du test de la plaque chauffante	145
3.2.2	Résultats du test de contorsions abdominales	147
3.2.3	Résultats du test au formalin	148
3.1	Etude de certains mécanismes impliqués	149
3.1.1	Implications des récepteurs opioïdes dans l'effet antinociceptif de l'extrait. ..	149
3.1.2	Implications des récepteurs muscariniques dans l'effet antinociceptif de l'extrait.	150
4.	Discussion.....	154
4.1	Discussion des résultats de la toxicité aiguë de MEHM	154
4.2	Discussion de l'activité analgésique de l'extrait de <i>Hyoscyamus muticus</i> et les mécanismes impliqués.....	155

5. Conclusion	161
---------------------	-----

Quatrième partie : étude de l'activité de <i>H. muticus</i> sur le comportement	162
--	------------

Chapitre 1 : Généralités sur les comportements étudiés	163
--	-----

1. Généralités sur la dépression	163
--	-----

1.1 Définition	163
----------------------	-----

1.2 Les facteurs en cause.....	164
--------------------------------	-----

1.3 Diagnostic de la dépression.....	164
--------------------------------------	-----

1.4 Les structures cérébrales impliquées dans la dépression	164
---	-----

1.4.1 Le cortex frontal et préfrontal	165
---	-----

1.4.2 Le cortex cingulaire antérieur	165
--	-----

1.4.3 L'amygdale.....	165
-----------------------	-----

1.4.4 L'hippocampe.....	166
-------------------------	-----

1.5 Traitement de la dépression.....	166
--------------------------------------	-----

1.5.1 Traitement pharmacologique.....	166
---------------------------------------	-----

1.5.2 Rôle de la phytothérapie dans le traitement de la dépression	168
--	-----

2. Généralité sur l'anxiété	168
-----------------------------------	-----

2.1 Définition	168
----------------------	-----

2.2 Les différents types de troubles anxieux	169
--	-----

2.2.1 Le trouble anxieux généralisé (TAG).....	169
--	-----

2.2.2 Les troubles de panique.....	169
------------------------------------	-----

2.2.3 Les troubles obsessionnels compulsifs (TOC).....	170
--	-----

2.2.4 Les phobies spécifiques.....	170
------------------------------------	-----

2.2.5 Le trouble d'anxiété sociale (TAS) ou la phobie sociale	170
---	-----

2.3 L'anxiété chez les animaux	171
--------------------------------------	-----

2.4 Le support neuroanatomique de l'anxiété	171
---	-----

2.5 Traitement de troubles anxieux généralisé.....	173
--	-----

3. Généralité sur l'activité locomotrice.....	173
---	-----

3.1 Définition et classification	173
--	-----

3.2 Les structures impliquées dans la motricité	174
---	-----

3.2.1 Le cortex moteur	174
------------------------------	-----

3.2.2 Le tronc cérébral.....	174
------------------------------	-----

3.2.3 Le cervelet.....	174
------------------------	-----

3.2.4 Les ganglions de la base (GBs).....	174
---	-----

3.2.5	La moelle épinière.....	174
3.2.6	Le thalamus	175
3.2.7	Le muscle	175
3.3	Le contrôle de l'activité des motoneurones.....	175
Chapitre 2 : Etude de l'effet de l'extrait de <i>Hyoscyamus muticus</i> sur le comportement des souris		
1.	Introduction.....	177
2.	Matériels et méthodes	179
2.1	Étude du comportement chez les animaux.....	179
2.2	Évaluation de l'effet de l'extrait sur l'anxiété chez les souris	180
2.2.1	Test de la boîte claire/sombre.....	180
2.2.1.1	Principe	180
2.2.1.2	Protocole expérimental	180
2.2.2	Test du labyrinthe en croix surélevé ou Elevated Plus Maze « EPM ».....	181
2.2.2.1	Principe	181
2.2.2.2	Protocole expérimental	182
2.3	Évaluation de l'effet de l'extrait de <i>Hyoscyamus muticus</i> sur les tests de dépression chez les souris.....	183
2.3.1	Test de la nage forcée.....	183
2.3.1.1	Principe	183
2.3.1.2	Protocole expérimental	184
2.3.2	Test de la suspension caudale « Tail suspension test »	185
2.3.2.1	Principe	185
2.3.2.2	Protocole expérimental	186
2.3.3	Test de champs ouvert (Open field) « OF »	187
2.3.3.1	Principe	187
2.3.3.2	Protocole expérimental	188
3.	Résultats.....	189
3.1	Évaluation d'une éventuelle propriété anxiolytique de la MEHM	189
3.1.1	Résultats de la chambre claire et obscure « light and dark test »	189
3.1.2	Effet de la MEHM dans le test de labyrinthe en croix surélevé chez la souris (EPMT)	190
3.2	Évaluation d'une éventuelle propriété antidépressive du MEHM sur le modèle de comportement animal	193

3.2.1	Effet de la MEHM sur le temps d'immobilisation dans le test de la suspension caudale (TST).....	193
3.2.2	Effet de la MEHM dans le test de la nage forcée (FST)	194
3.2.3	Évaluation de l'effet de l'extrait sur l'activité locomotrice dans le test d'Open filed (OFT)	194
4.	Discussion	196
5.	Conclusion	200
	Conclusion générale et perspectives	202
	Références bibliographiques	206
	ANNEXES	242

Liste des publications et communications

Liste des publications

Boufous H, Marhoume FZ, Chait A, Bagri A. Ethnopharmacological survey of medicinal plants with hallucinogenic effect and plants used against pain, inflammatory diseases, diabetes and urinary lithiasis in Zagora “Morocco. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*. 2017. 7: 144.

Marhoume FZ, Zaid Y, **Boufous H**, Errafiy N, Ait Laaradia M, Laadraoui J, Hakmaoui A, Bagri A, Chait A. Hepatoprotective activity of *Rubia tinctorum*'s extract against CCL4 induced hepatic injury in Rats. *European Journal of Medicinal Plants*. 2017. 20:4.

Zaid Y, Marhoume FZ, Senhaji N, Kojok K, **Boufous H**, Naya A, Oudghiri M, Darif Y, Habti N, Zouine S, Fekhaoui M, Chait A, Bagri A. Paraphenylene diamine exacerbates platelet aggregation and thrombus formation in response to a low dose of collagen. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2016. 41(1):123-128.

Liste des communications

Communications orales :

❖ Communications internationales

Boufous H, Marhoume FZ, Chait A, Bagri A. Acute Toxicity, and anti-nociceptive activity of methanolic extract of *Hyoscyamus muticus* in Mice. «6th Edition of International Conference on: “Pharmacognosy and Medicinal Plants” », April 16-17, 2018, Amsterdam, Netherlands.

❖ Communications nationales

Boufous H, Marhoume FZ, A Satef, Chait A, bagri A. Antidepressant and anxiolytic effects of methanolic extract of *Hyoscyamus muticus* in mice model. «6th Édition Journée Doctorant, CED Sciences et techniques », 5April 2018, Settat, Maroc.

Boufous H, Marhoume FZ, Chait A, bagri A. Antidepressant-like and anxiolytic-like effects of the methanolic extract of *Hyoscyamus muticus* in mice. «6th Édition de l'École International de Recherche sur le thème : Biodiversité des PAM, Biotechnologies, Produits de terroir et valorisation des substances naturelles ».19-21 Avril 2018.Université Ibn Zohr, Faculté des Sciences-Agadir, Maroc.

Communications affichées:

Boufous H, Marhoume FZ, Chait A, Bagri A. Ethnopharmacological survey of medicinal plants with hallucinogenic effect and used against pain, inflammatory diseases, diabetes and urinary lithiasis in Zagora “Morocco”. « 6th Edition of International Conference on: Pharmacognosy and Medicinal Plants », April 16-17, 2018, Amsterdam, Netherlands.

Boufous H, Marhoume FZ, Chait A, Bagri A. Acute toxicity, anti-nociceptive and anxiolytic effects of methanolic extract of *Hyoscyamus muticus* (Plant from southeast of Morocco). 5^{ème} édition de la Journée Doctorant, CED Sciences et techniques, Settati, Maroc.

Boufous H, Marhoume FZ, Chait A, Bagri A. Ethnopharmacological survey of medicinal plants with hallucinogenic effect and used against pain, inflammatory diseases, diabetes and urinary lithiasis in Zagora “Morocco”. 4^{ème} édition de la Journée Doctorant, CED Sciences et techniques, Settati, Maroc.

Liste des figures

Figure 1 : Méthodologie en ethnopharmacologie.

Figure 2 : Situation géographique de la province de Zagora.

Figure 3 : Carte de précipitations annuelles de la région de Draa-Tafilalet.

Figure 4 : Diagramme ombrothermique de la ville de Zagora.

Figure 5 : Carte de distribution des différents types de sols de la région de Draa Tafilalt.

Figure 6 : profil des participants en fonction de la tranche d'âge.

Figure 7 : Utilisation des plantes médicinales selon le niveau scolaire des participants.

Figure 8 : Les sources d'obtention des plantes médicinales utilisées par les participants.

Figure 9 : Raisons de l'utilisation des PMs par les participants.

Figure 10 : L'efficacité des remèdes à base des PMs.

Figure 11 : Pourcentage de plantes utilisées pour traiter des maladies ou ayant des effets spécifiques.

Figure 12 : Les différentes méthodes de préparation des remèdes à base de PMs.

Figure 13 : Connaissance des informations sur la toxicité des PMs utilisées.

Figure 14 : A : Photo de *Hyoscyamus muticus* L. B : photo de la fleur de *Hyoscyamus muticus* L. C : dessin de l'appareil végétatif.

Figure 15 : Les structures d'alcaloïdes tropaniques présentes dans la plante *Hyoscyamus muticus*.

Figure 16 : Les différents types des phénols présents dans l'extrait méthanoïque de *Hyoscyamus muticus*.

Figure 17 : Origine des différents types des espèces réactives d'oxygène et d'azote.

Figure 18 : Structures des tocophérols.

Figure 19 : Les deux formes de l'acide ascorbique (la vitamine C).

Figure 20 : Classification simplifiée des polyphénols.

Figure 21 : Structure de base des flavonoïdes.

Figure 22 : Schéma simplifié des étapes de préparation de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus*.

Figure 23 : Différentes étapes du dosage des polyphénols totaux par la méthode Folin-Ciocalteu.

Figure 24 : Réaction de formation du complexe flavonoïde-chlorure d'aluminium (AlCl_3).

Figure 25 : Différentes étapes du dosage des flavonoïdes par l'utilisation d' AlCl_3 .

Figure 26 : Réaction de la vanilline avec les tanins condensés.

Figure 27 : Différentes étapes de dosage des tanins condensés par la vanilline.

Figure 28 : Schéma général du fonctionnement de la chromatographie en phase liquide à haute performance.

Figure 29 : Mécanisme de réaction du DPPH avec l'antioxydant.

Figure 30 : Réaction FRAP entre Fe^{3+} et l'antioxydant réducteur.

Figure 31 : Chromatogramme montrant les pics obtenus pour l'analyse de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus*.

Figure 32 : Structure chimique des principaux alcaloïdes identifiés dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Hyoscyamus muticus*

Figure 33 : Facteurs influençant la sensation douloureuse.

Figure 34 : Les différents mécanorécepteurs sensoriels de la perception cutanée.

Figure 35 : Différents types de mécanismes moléculaires interviennent dans la sensibilisation périphérique.

Figure 36 : Transmission des messages nociceptifs par les fibres $A\delta$ et C aux neurones de la moelle épinière.

Figure 37 : Les voies de la douleur.

Figure 38 : Les dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique.

Figure 39 : Mode d'action des agents anti-inflammatoires.

Figure 40 : Protocole expérimental suivi dans le test de la plaque chauffante.

Figure 41 : Photo d'une souris placée sur une plaque chauffante.

Figure 42 : Réaction de contorsion après l'injection de l'acide acétique.

Figure 43 : Observation de la réaction de léchage de la patte postérieure à la suite d'une injection intraplantaire du formaldéhyde.

Figure 44 : Détermination de la DL₅₀ de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus*.

Figure 45 : Effet d'administration orale de l'extrait méthanolique à différentes doses et de la morphine dans le test de la plaque chauffante.

Figure 46 : Effet de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* et de l'acide salicylique ASA sur le nombre des contorsions chez les souris traitées.

Figure 47 : Effet des différentes doses de l'extrait et de l'ASA dans la phase neurogénique du test au formalin.

Figure 48 : Effet des différentes doses de l'extrait et d'ASA dans la phase inflammatoire du test au formalin.

Figure 49 : Résultats de l'étude de l'action du prétraitement à la naloxone et à l'atropine sur l'activité antinociceptive de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* dans le test de la plaque chauffante.

Figure 50 : Résultats de l'évaluation de l'activité antinociceptive de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* dans le test de contorsions abdominales induites par injection de l'acide acétique.

Figure 51 : Action de l'administration des différentes doses de l'extrait de *H. muticus* après traitement par l'atropine ou naloxone dans le test au formalin.

Figure 52 : Mode d'action des antidépresseurs : Exemple de rôle inhibiteur des antidépresseurs dans la transmission synaptique de la noradrénaline et la sérotonine.

Figure 53 : Les principales structures cérébrales impliquées dans l'anxiété.

Figure 54 : Schéma de l'organisation centrale du mouvement.

Figure 55 : Dispositif du test chambre claire et obscure.

Figure 56 : Dispositif du test du labyrinthe en croix surélevé.

Figure 57 : Schémas de comportement de la souris pendant le test de la nage forcée.

Figure 58 : Dispositif expérimental du test de la nage forcée.

Figure 59 : Représentation schématique de comportement d'immobilité et de mobilité chez les souris pendant le test de la suspension caudale.

Figure 60 : Dispositif utilisé pour le test la suspension caudale.

Figure 61 : Représentation des paramètres observés dans le test du champ ouvert.

Figure 62 : L'effet anxiolytique de MEHM et le diazépam dans le test de labyrinthe en croix surélevé.

Figure 63 : Résultats obtenus après traitement des animaux par différentes doses de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* et l'Anafranil dans le test de suspension caudale.

Figure 64 : Effet de la MEHM et de la Clomipramine sur la durée d'immobilité dans le test de nage forcée chez la souris.

Liste des tableaux

Tableau I : Répartition de la population de la province de Zagora selon les groupes âge et le sexe.

Tableau II : Les données sur le secteur de la santé dans la province de Zagora.

Tableau III : Niveau de fidélité (NF) des PMs utilisées par la population.

Tableau IV : Liste des plantes médicinales utilisées par la population de la province de Zagora.

Tableau V : Taxonomie de l'espèce *Hyoscyamus muticus* L.

Tableau VI : L'analyse des composés phénoliques présents dans l'extrait de *H. muticus*.

Tableau VII : Activité antioxydante de l'extrait de *H. muticus* et des antioxydants synthétiques.

Tableau VIII : Comparaison entre la douleur aiguë et la douleur chronique.

Tableau IX : La classification des analgésiques.

Tableau X : Les mécanismes d'action de certains flavonoïdes des plantes médicinales.

Tableau XI : Données sur les solutions et les médicaments utilisés dans les expérimentations.

Tableau XII : Transformation du pourcentage de mortalité en probits.

Tableau XIII : Toxicité aiguë par voie intrapéritonéale de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* chez la souris.

Tableau XIV : Résultats obtenus dans le test dans le test de la plaque chauffante.

Tableau XV : Résultats obtenus dans le test de la boîte claire/obscurité chez la souris.

Tableau XVI : L'effet de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* sur les paramètres comportementaux observés dans le modèle d'anxiété du labyrinthe en croix surélevé.

Tableau XVII : L'effet de la MEHM et du diazépam sur les paramètres comportementaux dans le test en champ ouvert plein air chez la souris.

Liste des abréviations

- 5-HT : 5 -Hydroxytryptamine
- AA : Acide acétique.
- ACh : Acétylcholine
- ADN : Acide désoxyribonucléique.
- AINS : Anti-Inflammatoire non stéroïdien.
- AIS : Anti-Inflammatoire Stéroïdiens.
- APA : Association américaine de la psychiatrie (American Psychiatric Association)
- ASA : Acide acétylsalicylique
- BDNF: Brain-Derived Neurotrophic Factor
- BHT: Butylhydroxytoluène.
- BZD : Benzodiazepine.
- CLHP : Chromatographie liquide haute performance
- CPG-SM : Chromatographie gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse.
- DL 50 : Dose létale 50.
- DMSO : DiMéthylSulfOxide.
- DPPH : DiPhenylPicrylHydrazyl.
- DT2 : Diabète type 2
- EAA : Équivalent d'Acide ascorbique.
- EAG : Équivalent d'Acide gallique
- EPT : Le labyrinthe surélevé
- ER : Équivalent de Rutine.
- ERO : Espèces réactives d'oxygène
- FC : Folin-Ciocalteu.
- Fe²⁺ : Ion ferreux.
- Fe³⁺ : Ion ferrique.
- FRAP : Pouvoir antioxydant de la Réduction du Fer.
- FSRT :Faisceau Spino-Réticulo-thalamique.
- FST : Faisceau spinothalamique.
- GABA : Acide Gamma AminoButyrique.
- HPA: Hypothalamic-Pituitary-Adrenal
- IASP: International Association for the Study of Pain.
- IC₅₀ : Concentration inhibitrice médiane.

IFN : Interféron.
IFN- α : Interféron- α
IL-2 : Interleukin-2
IL-6 : Interleukin-6
LDT : Test de la chambre claire et sombre ou light and dark box test
MAO : Monoamine Oxidase
MEHM : Extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* L
nAChR : Récepteurs nicotiniques d'Acétylcholine.
NO : Le monxyde d'azote.
NO: Nitric Oxide
NOS: NO synthase.
O₂^{•-} : Anion superoxyde.
OCDE : Organisation de Coopération et de Développement économiques.
OMS : Organisation mondiale de la santé
ONOO⁻ : Le peroxydinitrite.
ONOOH : radical peroxydinitrite.
OPF : Test du champ ouvert
PARF : partie aérienne rameaux feuilles.
PFC : Préfrontal Cortex
PH : Potentiel d'Hydrogène.
R% : Rendement exprimé en %
SD : Standard de déviations.
SOD: Superoxyde dismutase.
SSRI : Selective Serotonin Reuptake Inhibitor
TBZ : Tetrabenazine
TCA : Tricyclic Antidepressant
TCA : Acide trichlorure acétique.
TST : Test de la suspension par la queue.

INTRODUCTION GÉNÉRALE



Introduction générale

L'histoire humaine a toujours été liée à l'utilisation des plantes médicinales dans la prévention et traitement de différentes maladies (**Benkhniq et al., 2011**). Des données archéologiques montrent la présence des traces de produits de plantes dans les tombes néanderthaliennes datant de plus de 600 000 ans. La pratique médicale traditionnelle a commencé avec l'ingestion des plantes crues ou sèches, mais après la découverte du feu, d'autres méthodes de préparation des remèdes naturels à base des plantes médicinales sont apparues principalement les infusions, les décoctions et les fumigations. L'accumulation des pratiques et les connaissances acquises liées à la médecine traditionnelle sont influencées par des facteurs liés à la communauté, la géographie de la zone, le climat et des connotations religieuses. Malheureusement, certains de ces savoir-faire se sont perdus au fil du temps en raison de l'incorporation de la médecine conventionnelle et la propagation de l'utilisation des médicaments synthétiques. Récemment, l'utilisation de remèdes à base des plantes médicinales a fait un retour en force ; plusieurs facteurs sont à l'origine de ce regain d'intérêts : les couts moins chers que les médicaments issus de la médecine conventionnelle, la méfiance vis-à-vis de l'utilisation des médicaments synthétiques qui est liée à de nombreux effets secondaires et l'influence des facteurs socioculturels et environnementaux des patients (**Shaw, 2012**). Partout dans le monde, des chercheurs en pharmacologie et des spécialistes en médecine traditionnelle unissent leurs forces pour insérer la médecine traditionnelle dans le XXI^e siècle. Plusieurs programmes sont initiés dans les pays en voie de développement pour initier des projets d'identification, de validation et de conservation des reconnaissances liées à l'utilisation thérapeutique des plantes (**Burton, 2015**). En octobre 2013, l'OMS a initié une stratégie (2014-2023) visant à guider les pays dans l'élaboration d'une réglementation développée, d'une gouvernance efficace et de l'intégration des pratiques de médecine traditionnelle dans la médecine moderne (**Burton, 2015**). A l'échelle nationale, la phytothérapie a connu un engouement considérable dans le système de santé marocain. Plusieurs projets et programmes de recherches ont été initiés pour valoriser les connaissances théoriques et pratiques anciennes et les adapter à des critères pharmaceutiques et toxicologiques qui permettraient d'intégrer cette discipline dans la médecine conventionnelle. La valorisation scientifique de la médecine traditionnelle doit certainement conduire à l'élaboration de médicaments à base de plantes sous des formes galéniques adéquates, sans risques, efficaces et avec des couts raisonnables.

Le Maroc se caractérise par un patrimoine naturel riche abritant différents écosystèmes. Le secteur des PMs et aromatique au Maroc est l'un des plus riches dans le monde. Il constitue un domaine d'importance socioéconomique avec une production annuelle de 33 000 tonnes. La richesse en PMs au Maroc est due à sa situation géographique privilégiée et à un climat soumis aux différentes influences atlantiques, méditerranéennes et sahariennes.

Actuellement, la stratégie de recherche de nouvelles molécules bioactives est basée sur des approches ethnobotaniques privilégiant l'utilisation de certaines plantes médicinales locales. À cet égard, plusieurs études ethnobotaniques ont été menées, dans les différentes régions du Maroc, pour identifier, valoriser et préserver les savoirs relatifs à l'usage traditionnel des plantes médicinales. Ces études ont permis de recenser des dizaines de plantes qui ont été soumises par la suite à des vérifications scientifiques par des méthodes chimiques et pharmacologiques. Un grand nombre des produits à base de plantes utilisés en thérapeutique traditionnelle marocaine n'a pas encore été étudié scientifiquement.

La présente thèse sera organisée autour d'un plan comportant quatre grandes parties. Chaque partie sera structurée en introduction, matériels et méthodes, résultats, discussion et finalement une conclusion. Nous consacrerons la première partie de ce manuscrit pour présenter les données théoriques de l'étude ethnopharmacologique et la zone d'étude, la description de l'enquête, les résultats de l'enquête ethnopharmacologique, la discussion des résultats obtenus et nous terminerons cette partie par une conclusion.

La deuxième partie de ce travail sera consacré à l'étude de la phytochimie et l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de la plante de *Hyoscyamus muticus*. Dans cette partie nous présenterons les données théoriques sur l'espèce de plante choisie, les généralités sur la phytochimie et l'activité antioxydante, la présentation des résultats obtenus, la discussion et finalement une conclusion.

La troisième et la quatrième partie de ce manuscrit seront consacrées successivement à l'étude de l'effet de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* sur la douleur, dépression et l'anxiété. La troisième partie sera consacrée à l'évaluation de l'effet de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* sur la douleur : après avoir défini la douleur et ses composantes nous attacherons à décrire les différents types et les voies des messages douloureux au niveau

du système nerveux. Dans un deuxième temps nous présenterons les démarches suivies pour évaluer l'effet antinociceptif de la plante, la présentation des résultats obtenue, la discussion de ces résultats et nous finirons cette partie par une conclusion.

Dans la quatrième partie nous intéressons à l'évaluation expérimentale de l'effet de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* sur le comportement chez les souris. Au début de cette partie nous présenterons les différentes bases théoriques liées à la dépression, l'anxiété et l'activité locomotrice. Puis, nous illustrerons les tests de comportements utilisés, les résultats obtenus, la discussion et une conclusion. Pour clôturer nous nous terminerons par une conclusion générale et les perspectives de ce travail.

Les objectifs et hypothèses spécifiques de la présente étude

Dans ce travail de thèse nous nous sommes fixés sur les objectifs suivants :

- 1- La réalisation d'une étude ethnopharmacologique au sein de la population de la province de Zagora. Cette étude sera pour objectif de recenser, documenter et d'élaborer un catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement de la douleur, l'inflammation, le diabète et la lithiase urinaire. Cette étude pourrait aussi nous renseigner sur l'importance de la thérapie traditionnelle locale, les modalités de transmission des pratiques d'usages, les sources d'obtentions, les parties utilisées, la toxicité et la posologie recommandée. Sur la base de cette enquête nous allons procéder à l'étude toxicologique et neuropharmacologique de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* (MEHM).
- 2- Elaboration d'une étude phytochimique pour identifier et estimer la teneur des phytoconstituants les plus abondants dans l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* (MEHM).
- 3- Evaluation in vitro du potentiel antioxydant de MEHM par des méthodes adaptées à l'évaluation du potentiel antioxydant des extraits de plantes.
- 4- Estimation de la toxicité aiguë par la voie orale et intrapéritonéale de l'extrait de *Hyoscyamus muticus*.
- 5- Evaluation de possible effet de MEHM sur la sensation de la douleur chez les souris en utilisant différents tests pharmacologiques.
- 6- Détermination de quelques mécanismes impliqués dans l'effet analgésique observé chez les groupes traités par l'extrait.
- 7- Evaluation in vivo de l'effet antidépresseur et anxiolytique de MEHM en utilisant des tests comportementaux.

Dans ce contexte, on pose l'hypothèse que l'utilisation des remèdes à base de plantes médicinales est très répandue dans cette province et ce savoir local pourrait nous renseigner sur des plantes médicinales endémiques qui pourraient être efficaces dans le traitement de la douleur et certains troubles mentaux comme la dépression et l'anxiété. *Hyoscyamus muticus* est une espèce de plante couramment utilisée dans la médecine traditionnelle locale pour traiter certains troubles mentaux suggérant ainsi un effet central de la plante et donc leur utilisation dans le soulagement de la douleur, la dépression et de l'anxiété.

Première partie
Etude ethnopharmacologique

Première partie : Étude ethnopharmacologique

1. Introduction

L'ethnopharmacologie est une discipline qui s'intéresse à l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales et les savoir-faire traditionnels. Les enquêtes ethnopharmacologiques deviennent des outils fiables et très utilisées dans la découverte de nouveaux médicaments. En effet, Ces études ont apporté à l'humanité plus de 60% de médicaments utilisés dans la médecine moderne (**Fleurentin, 2012**). La réalisation des enquêtes ethnopharmacologiques aide à préciser la composition du remède à base des plantes médicinales, son mode de préparation, sa posologie et sa toxicité. Ces informations sont toujours accompagnées par des échantillons pour faciliter l'identification et la préparation des herbiers botaniques. Au fil des années l'ethnopharmacologie trouve son originalité et sa place par le développement méthodologique et l'élaboration des collaborations avec des spécialistes des sciences humaines et des sciences de la nature. Dans notre globe il y a environ 300000 espèces de plantes à fleur et seulement moins de 10% auraient été étudiée scientifiquement. Cette richesse écologique mondiale représente donc un énorme réservoir de composés naturels qui attendent d'être découverts, de déterminer leurs qualités et leurs efficacités. Ce patrimoine naturel devrait être préservé et intégré dans la médecine moderne.

Dans la finalité de connaître, valoriser et préserver les savoirs relatifs à l'usage traditionnel des plantes au Maroc, des dizaines d'études ethnobotaniques ont été menées dans les différentes régions du royaume (**Benkhnigue et al., 2010 ; Eddouks et al., 2017 ; Benali et al., 2017 ; Hind et al., 2017 ; Barkaoui et al., 2017**). Ces études ont permis d'identifier les utilisations traditionnelles de plusieurs espèces de plantes contre différents types de maladies. Parmi les plantes étudiées, certaines ont été sujet par la suite à des vérifications scientifiques par des méthodes chimiques et pharmacologiques (**Chebaibi et al., 2011 ; El Cadi et al., 2012 ; El Youbi et al., 2012**). Ce travail s'inscrit dans le même objectif de recherche de valorisation et de validation de l'usage traditionnel de certaines plantes endémiques du Maroc.

Depuis l'antiquité, la vallée du Draa en général et la province de Zagora en particulier constituent une zone de métissage de civilisations et d'influences culturelles diverses grâce aux différentes vagues d'immigration. Ce croisement entre les différentes ethnies et cultures entraîne un brassage des connaissances et des savoir-faire phytothérapeutiques dans la région. Le développement durable dans cette province, qui manque d'infrastructures suffisamment de

base et qui montre un niveau de vie relativement bas de la population, nécessite l'amélioration des ressources culturelles et de les préserver contre la négligence et la surexploitation. Cependant, aucun travail ethnopharmacologique n'a été réalisé dans la région de Zagora. Cette étude se propose de participer, dans le grand chantier de l'exploration et préservation des plantes médicinales locales, en collectant des informations sur l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de plusieurs maladies par la communauté locale de cette région. A travers cette partie, nous présenterons les différents aspects théoriques liées à l'ethnopharmacologie, la méthodologie suivie dans la réalisation de l'enquête, ainsi que les résultats obtenus et finalement nous terminerons par une discussion.

2. Données générales et régionales

2.1 Données générales sur l'ethnopharmacologie

2.1.1 Définition

L'ethnopharmacologie : ethno (du grec ethnos, culture ou peuple), pharmacologie (le médicament) est une discipline qui s'intéresse aux connaissances pharmacologiques des différentes ethnies et des médicaments (**Dos Santos et Fleurentin, 1991**). C'est un domaine de recherche mis en œuvre pour isoler des molécules supposées intéressantes dans le domaine pharmaceutique et médical. Le terme ethnopharmacologie a été publié pour la première fois en 1967 comme titre d'un livre (**Efron et al., 1970**). Au cours du 1^{er} congrès européen d'ethnopharmacologie de Metz en 1990, une nouvelle définition a été élaboré comme étant « l'étude scientifique interdisciplinaire de l'ensemble des matières d'origine végétale, animale ou minérale et des savoirs ou des pratiques s'y rattachant, que les cultures vernaculaires mettent en œuvre pour modifier les états des organismes vivants à des fins thérapeutiques, curatives, préventives ou diagnostiques (**Fleurentin, 1990**). Il convient de noter qu'il existe une différence entre ethnopharmacologie et ethnobotanique, cette dernière ne se concentrait pas seulement sur les plantes, mais aussi sur d'autres produits naturels dérivés de la nature (les aliments, plantes à fibre, colorants, plantes ornementales et oléagineuses).

2.1.2 Les objectifs de l'ethnopharmacologie

L'ethnopharmacologie est un domaine de recherche multidisciplinaire portant sur l'observation, la description et les études expérimentales des remèdes naturels (**Etkin et**

Elisabetsky, 2005). Le domaine ethnopharmacologique établit un pont entre le terrain et le laboratoire, entre les sciences humaines et les sciences exactes, entre les minorités et les multinationales. Depuis toujours, les laboratoires pharmaceutiques s'intéressent à l'ethnopharmacologie afin d'élaborer des banques de données pour une future utilisation dans la découverte des nouvelles molécules efficaces (**Élisabeth Motte Florac, 2002**).

L'ethnopharmacologie est devenue actuellement une science importante dans les pays en développement. En effet, les recherches en ethnobotanique et ethnopharmacologie nécessitent moins de moyens financiers, car les populations de ces pays ayant un accès limité au service de santé publique détiennent de riches connaissances traditionnelles sur les plantes médicinales (**Houehanou, 2015**). Parmi les principaux objectifs, de l'étude d'ethnopharmacologie, nous citerons :

- ✓ Documenter et recenser les connaissances traditionnelles.
- ✓ Élaborer une base de données sur les utilisations pharmaceutiques et faciliter le partage des connaissances à travers la création des journaux spécialisés et des livres.
- ✓ Développer l'ethnobotanique.
- ✓ Évaluer la toxicité et l'activité thérapeutique des remèdes en utilisant des outils de la pharmacologie moderne.
- ✓ Assurer le développement de médicaments, en particulier pour usages locaux.
- ✓ Préconiser le développement des ressources autochtones en particulier les plantes locales.

Ainsi, l'ethnopharmacologie est essentielle pour conserver une trace écrite au sein des pharmacopées des médecines traditionnelles dont la transmission est basée généralement sur la transmission traditionnelle des savoirs par la voie orale.

2.1.3 Méthodologie de recherche en ethnopharmacologie

La recherche en ethnopharmacologie se déroule en trois principales étapes :

- ✓ Une enquête de terrain consistant à comprendre les connaissances, le système de santé traditionnel et recenser les substances de différentes origines (végétale, animale et minérale) à des fins thérapeutiques.

- ✓ Un travail de laboratoire où l'on vérifie la toxicité, l'efficacité de ces remèdes traditionnels à l'aide d'outils scientifiques modernes. L'expérimentation scientifique doit être réalisée in vivo et in vitro.
- ✓ Un retour de l'information vers le terrain pour l'exploitation des données collectées dans le cadre d'un programme de développement et de valorisation de la recherche dans le domaine pharmaceutique.

La figure 1 résume l'ensemble des démarches méthodologiques en ethnopharmacologie.

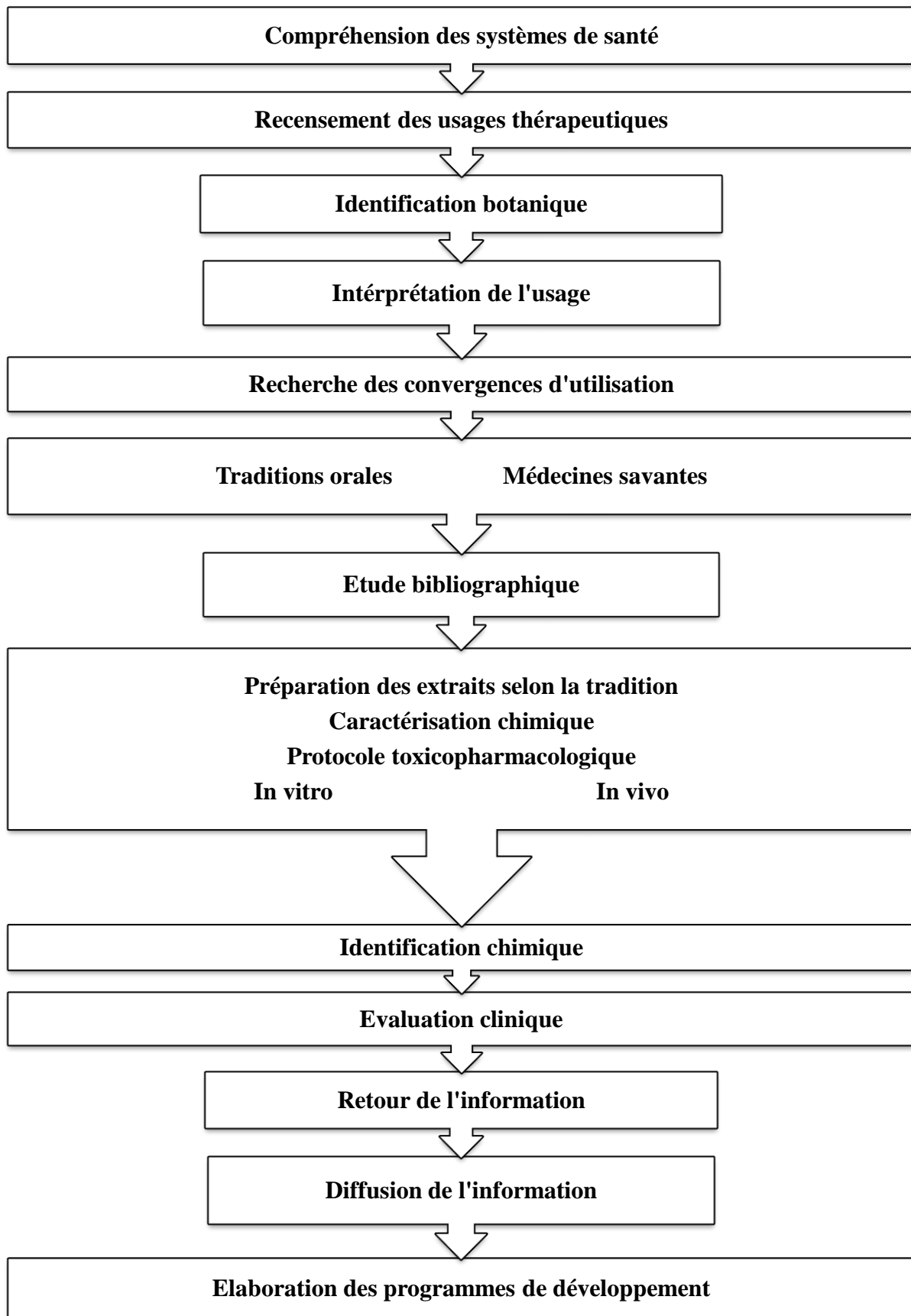


Figure 1 : Méthodologie en ethnopharmacologie selon (Fleurentin, 1990).

2.1.4 L'importance des plantes médicinales au Maroc

2.1.4.1 Définition d'une plante médicinale

Une plante est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal. C'est-à-dire qu'elle renferme au moins une partie qui possède un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Ces substances d'origine végétale peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques ou comme des précurseurs pour la synthèse de nouveaux médicaments efficaces (**Sofowora et al., 2013**). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par la population mondiale à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Fleurentin, 2013**).

2.1.4.2 Diversité et utilisation des plantes médicinales (PMs)

Le Maroc a 715 000 km² de surface et plus de 5200 espèces de plantes réparties en 981 genres et 155 familles (**Elhilaly, 2003**). Elles comprennent environ 800 espèces de plantes aromatiques et médicinales (**Abouri et al., 2012**). Cette richesse des plantes médicinales est le résultat de la diversité des écosystèmes terrestres et de l'hétérogénéité du climat que l'on peut observer d'une région à l'autre. Selon des statistiques de l'Organisation mondiale de la santé, 80 % de la population africaine recourt aux remèdes à bases de plantes médicinales (**OMS, 2016**). La population marocaine utilise les PMs depuis des centaines d'années, l'accumulation de ces savoirs traditionnels était influencée par les différentes cultures et ethnies venues du Moyen-Orient, d'Europe et d'Afrique subsaharienne. Ces savoirs traditionnels englobent les connaissances, le savoir-faire, les méthodes, les techniques et les pratiques qui sont élaborés, appliqués et transmis d'une génération à une autre au sein de la communauté qui considère ces connaissances comme une identité culturelle (**Bellakhder, 1997**). Cette richesse culturelle lui permet d'occuper une place privilégiée parmi les pays de la région méditerranéenne dans le savoir-faire traditionnel (**Scherrer et al., 2005**). Depuis le début du millénaire jusqu'à aujourd'hui, plusieurs études ethnobotaniques ont été réalisées dans différentes régions du royaume. Ces études indiquent, sans aucun doute, la place primordiale d'automédication par les remèdes à bases des plantes médicinales dans les soins de santé primaires de la population marocaine. En moyenne, le pourcentage d'utilisation

de la phytothérapie varie entre 55 à 90 % selon les régions, les patients utilisent ces plantes pour traiter les douleurs, le diabète, l'hypertension et les maladies rénales (**Eddouks et al., 2009 ; El Amrani et al., 2010 ; Benlamdini et al., 2014 ; Ouhaddou et al., 2014 ; Benkhiguel et al., 2014 ; Khouchlaa et al., 2016**).

2.2 Données géographiques, climatiques, économiques, et démographiques sur le lieu de l'enquête

2.2.1 Données géographiques

Zagora est une province située dans la partie orientale de l'Anti-Atlas dans l'Est du Maroc ; elle est limitée au nord par les montagnes de Jbel Saghro. Elle est dominée géologiquement par l'ancienne chaîne de l'Anti-Atlas, et traverse les chaînes de montagnes de Jbel Bani. Administrativement, la province de Zagora appartient à la région de Draa Tafilalet, délimitée au Nord et à l'ouest par la province d'Ouarzazate, à l'ouest par la province de Tata, à l'Est par la province d'Er-Rachidia et au Sud par les frontières avec l'Algérie (Figure 2). Elle est subdivisée en 25 communes dont deux urbaines, le taux d'urbanisation est d'environ 16,5 %. Elle couvre 3,55 % de la superficie totale du pays avec une surface de 23 000 km², d'une population d'environ 307 306 habitants (densité d'environ 13,36 habitants par km²) dont 256 558 habitants dans le milieu rural (**HCP, 2017**).

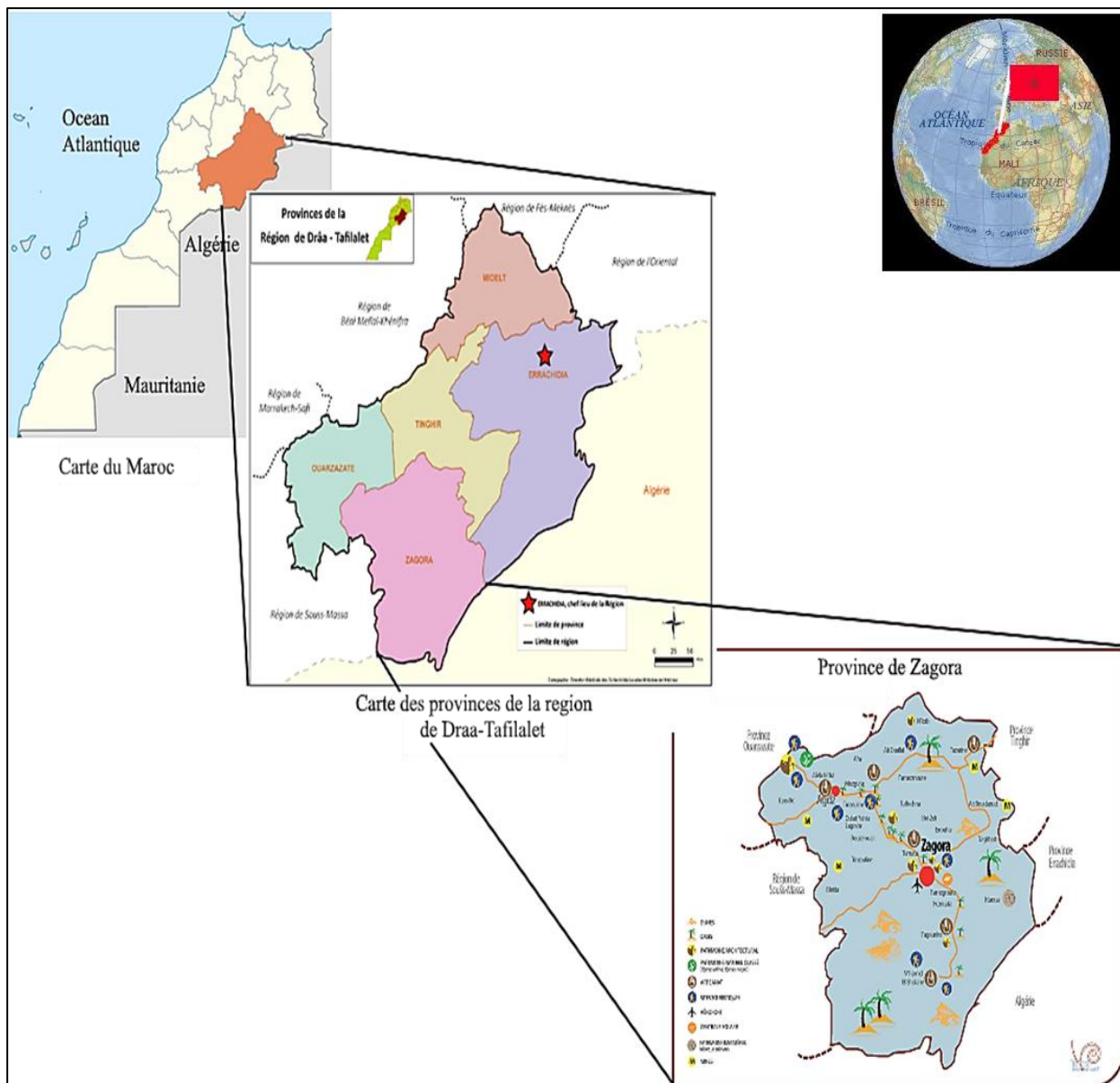


Figure 2 : Situation géographique de la province de Zagora (**Direction générale des collectivités locales, 2015**)

2.2.2 Données climatiques de la zone d'étude

Le climat de cette zone s'inscrit globalement dans l'étage bioclimatique saharien à hiver tempéré caractérisé par une hyperaridité marquée. Le Haut Atlas forme une barrière quasi infranchissable pour les vents froids et humides qui se développent sur la partie nord du pays.

Les précipitations enregistrées au niveau des stations dans la province de Zagora accusent des

Irrégularités annuelles importantes qui décroissent du nord vers le sud et d'ouest vers l'est. La pluviométrie moyenne annuelle très faible est généralement inférieure à 100 mm/ans. Par exemple, la précipitation moyenne annuelle est de 108 mm à Agdz, de 74 mm à Zagora ville, de 54 mm à Tagounite et de 68 mm à Tazarine (Figure 3).

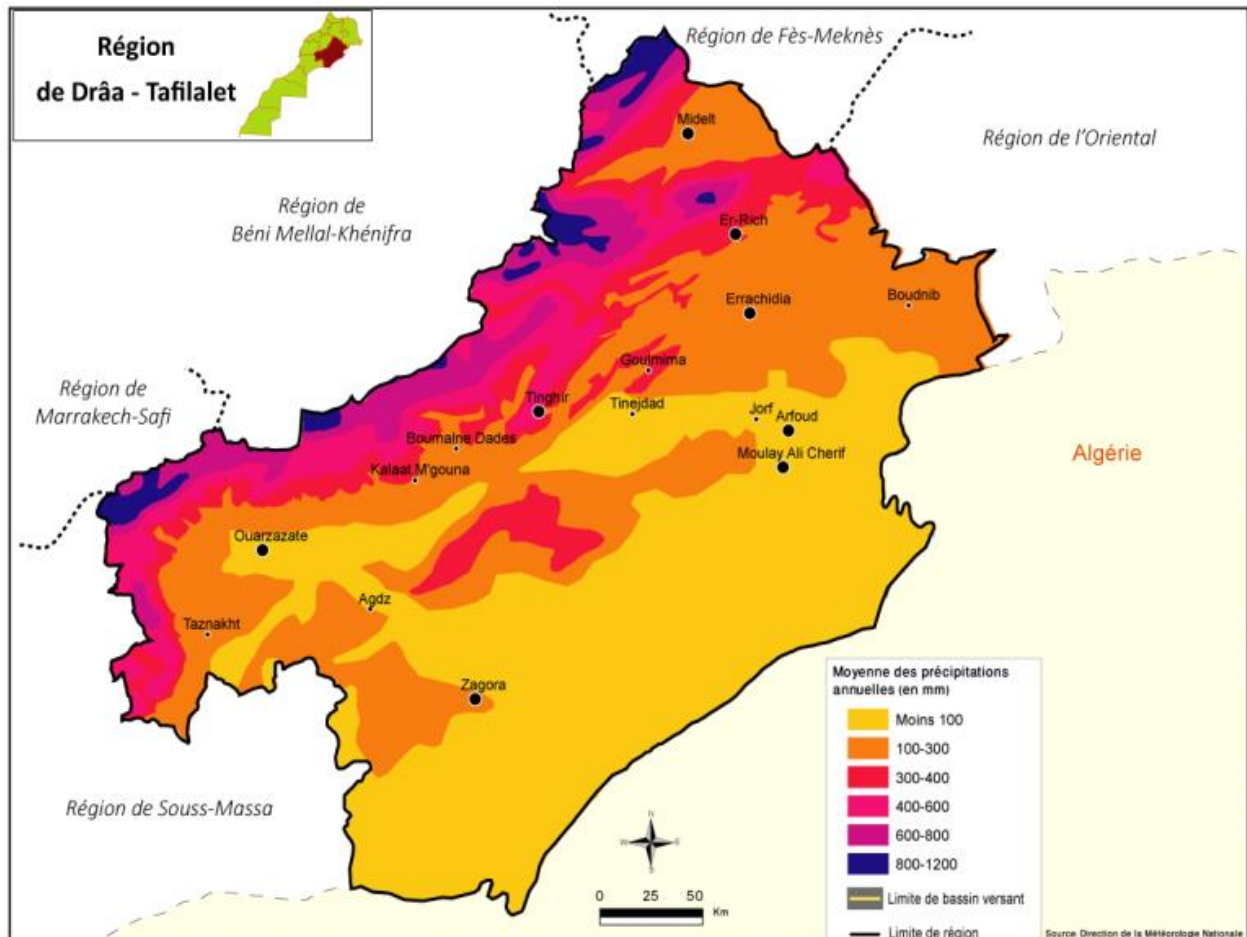


Figure 3 : Carte des précipitations annuelles de la région de Draa-Tafilalet (**Direction générale des collectivités locales, 2015**).

La province de Zagora est caractérisée par le vent dominant dit « Chergui » sec, chaud et desséchant de provenance du Nord-Est, plus fréquent en été. Un autre type dit « Sahéli » plus frais qui souffle en hiver de l'ouest en provenance du Sud-Ouest (**El-Araby et Faleh, 2017**). La vitesse annuelle moyenne du vent dans la ville de Zagora est de l'ordre de 2,25 m/s. Les températures dans cette province se caractérisent par de grandes amplitudes thermiques tant saisonnières que journalières. La température moyenne annuelle enregistrée dans la ville de Zagora est de 22,5 °C. Elle varie, selon les mois de l'année, de 12,6 °C en janvier à 33,7 °C en juillet. Les températures minimales varient entre -2 °C et -4 °C en hiver et 15,8 °C et 17,8 °C en été. Les températures maximales varient entre 27 °C et 41 °C en hiver et entre

41 °C et 48 °C en été. Le mois de juillet est le plus chaud tandis que janvier est le mois le plus froid avec des températures minimales descendant parfois en dessous de -5 °C (Figure 5). Le mois de juin enregistre la période la plus élevée d'ensoleillement quotidien avec une moyenne de 12h49min. Le mois de janvier est le mois avec le moins d'heures d'ensoleillement ; il enregistre une moyenne de 9h34 heures d'ensoleillement par jours. Au total, environ 3964,85 heures d'ensoleillement sont enregistrées à Zagora tout au long de l'année.

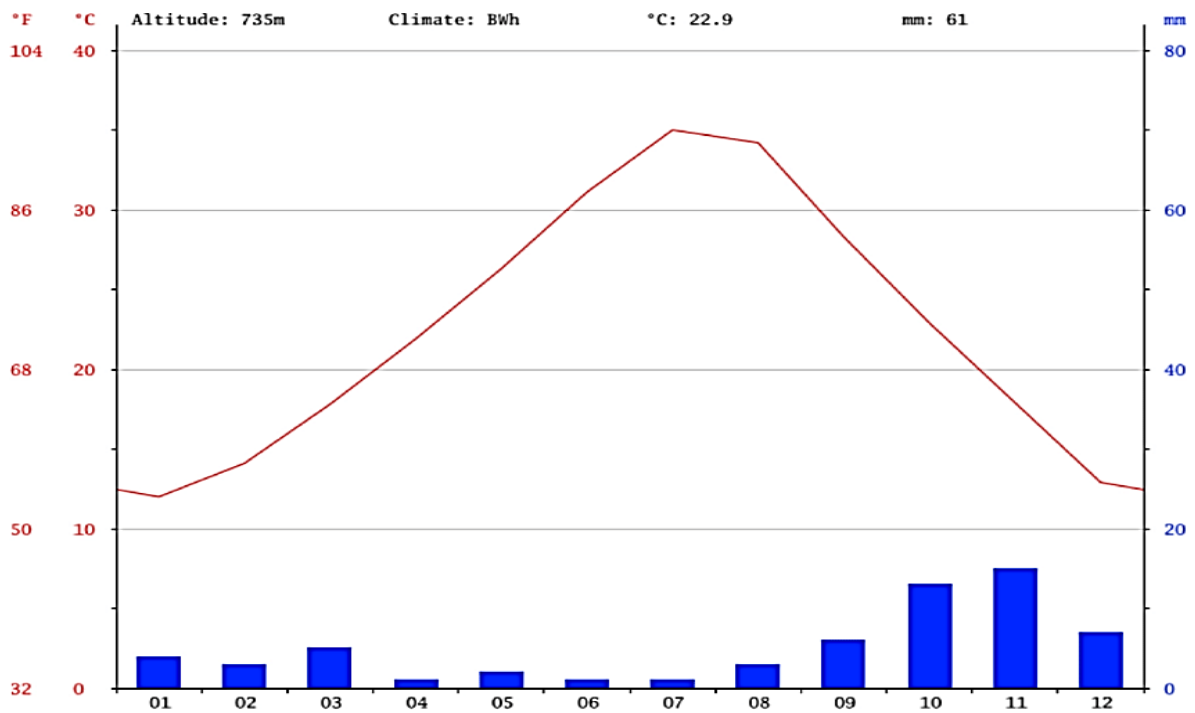


Figure 4 : Diagramme ombrothermique de la ville de Zagora (Srairi et al., 2017).

En ce qui concerne la texture du sol, on en trouve différents types à savoir : sol argilo limoneux, argilo Limono - sablonneux, argilo-Sablo-Limoneux, rmel, hrache et sablo-limono-argileux. Toutefois, le type argilo limoneux reste dominant (Figure 5).

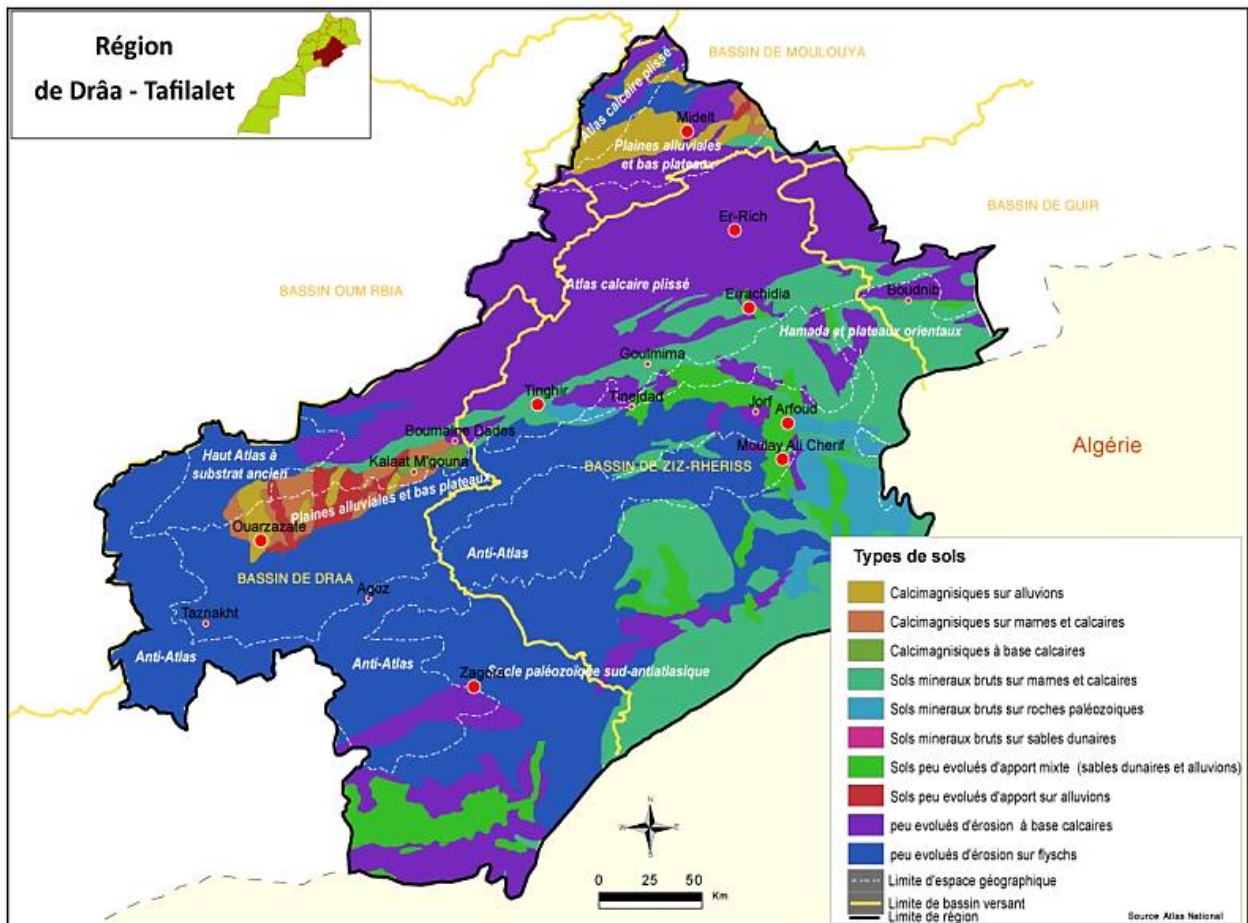


Figure 5 : Carte de distribution des différents types de sols de la région de Draa Tafilalet (Direction générale des collectivités locales, 2015).

Les ressources hydriques de la vallée du Drâa sont basées principalement sur les apports superficiels de l'oued Drâa. Cette province appartient au niveau hydrographique aux bassins du Drâa et du Maadider (El-Araby et Faleh, 2017). Six nappes phréatiques différentes sur lesquelles reposent les six oasis constituent la vallée du Drâa moyen (El-Araby et Faleh, 2017). L'exploitation intensive, la diminution importante des quantités de précipitation, l'accroissement des taux d'évapotranspiration, l'augmentation de la salinité des eaux souterraines et l'influence des changements climatiques sont les principaux paramètres qui influencent le bilan hydrique de la province (Ouyssse et al., 2010 ; El-Araby et Faleh, 2017). Certes, la situation hydrique actuelle de ces oasis devient plus critique à cause du stress hydrique et de la rareté des ressources hydriques qui affectent le développement agricole et la durabilité à long terme (Agoussine, 2004).

2.2.3 Données sur la population locale

La population de la province de Zagora est très jeune, 62,9 % des habitants ont moins de 30 ans (Tableau I). Selon les données du recensement de 2014, cette province connaît un taux d'analphabétisme de plus de 36,8 % dans l'ensemble de la population, caractérisée par un taux élevé chez les femmes 49.6 % dont 52,2 % chez les femmes des milieux ruraux (haut-commissariat au plan, direction de la statistique « R.G.P.H 2014 »). Cette population est caractérisée par une diversité ethnique et linguistique importante due aux différentes migrations et aux brassages culturels au sein de la vallée du Drâa. La phoeniciculture, la culture de palmier dattier, reste la source principale de revenus pour la population de Zagora et le principal pilier de l'agriculture familiale dans la vallée du Drâa. Les activités commerciales de la population locale de cette province reposent généralement sur les petites transactions et revêtent un aspect traditionnel. En 2017, le taux de chômage dans la province était d'environ 16,5 % (**CERED, 2017**).

Tableau I : Répartition de la population de la province de Zagora selon les groupes âge et le sexe d'après le recensement de 2014 (HCP, 2017).

Groupes d'âge	Effectifs			Fréquences (%)		
	Masculin	Féminin	Total	Masculin	Féminin	Total
Groupes quinquennaux d'âge						
00 - 04 ans	20 154	19 235	39 389	6,6	6,3	12,9
05 - 09 ans	16 331	15 845	32 176	5,3	5,2	10,5
10 - 14 ans	16 923	16 033	32 956	5,5	5,2	10,8
15 - 19 ans	17 194	17 277	34 471	5,6	5,7	11,3
20 - 24 ans	16 090	16 617	32 707	5,3	5,4	10,7
25 - 29 ans	11 889	12 956	24 845	3,9	4,2	8,1
30 - 34 ans	9 954	11 592	21 546	3,3	3,8	7,1
35 - 39 ans	7 610	9 065	16 675	2,5	3,0	5,5
40 - 44 ans	6 197	7 380	13 577	2,0	2,4	4,4
45 - 49 ans	5 016	5 972	10 988	1,6	2,0	3,6
50 - 54 ans	4 559	5 961	10 520	1,5	2,0	3,4
55 - 59 ans	4 462	5 058	9 520	1,5	1,7	3,1
60 - 64 ans	4 077	4 715	8 792	1,3	1,5	2,9
65 - 69 ans	2 820	2 809	5 629	0,9	0,9	1,8
70 - 74 ans	2 319	2 378	4 697	0,8	0,8	1,5
75 ans et +	3 499	3 523	7 022	1,1	1,2	2,3
Non déclaré	0	0	0	0,0	0,0	0,0
Grands groupes d'âge						
00 -14 ans	53 408	51 113	104 521	17,4	16,7	34,2
15 -59 ans	82 971	91 878	174 849	27,2	30,2	57,3
60 ans et +	12 715	13 425	26 140	4,1	4,4	8,5
Non déclaré	0	0	0	0	0	0
Total	149 094	156 416	305 510	48,7	51,3	100

2.2.4 Données sur la santé dans la province de Zagora

Les données sur la santé dans la province de Zagora sont présentées dans le tableau II.

Tableau II : Les données sur le secteur de la santé dans la province de Zagora (D'après l'annuaire du Maroc de l'année 2017 et 2018).

Nombre des Hôpitaux généraux	Nombre De lits dans les hôpitaux Publics	Centres de santé urbains	Centres de santé Ruraux	Dispensaires Ruraux	Nombre des médecins (privé et public)	Nombre d'Infirmiers public
1	69	28	91	89	79	122

3. Méthodes

3.1 Description de l'enquête ethnopharmacologique

La première partie de cette thèse est basée sur la réalisation d'une enquête qui repose sur un questionnaire qui a concerné 1400 personnes, dont 640 personnes souffrant de diabète et de calculs rénaux, et habitant dans différents endroits dans la majeure partie des communes de la province de Zagora. Ce travail a duré plus de deux ans. Commencé en janvier 2014, il s'est achevé en septembre 2016, pendant lesquels nous avons réalisé des entretiens avec des personnes des différentes communes de cette province. Au début de ce travail, nous avons procédé à une enquête exploratrice auprès des herboristes et les tradithérapeutes. Durant la deuxième phase de l'enquête, les données ont été recueillies à l'aide d'un questionnaire semi-structuré. Le formulaire du questionnaire de l'enquête se divise en trois parties permettant de récolter des informations portant sur :

- **L'informant** : Âge, sexe, niveau d'étude
- **Les données concernant la santé de l'informant** : maladie, type des médicaments utilisés, la durée de traitement...
- L'information sur les plantes médicinales utilisées contre la douleur, l'inflammation, le diabète et les calculs rénaux parmi ces informations :
 - le nom de la plante utilisée : Nom vernaculaire en arabe ou en Amazigh.

- la source d'obtention de la plante : acheté, cultivée, récolté dans le milieu...
- la partie utilisée : les feuilles, les racines, les parties aériennes, les graines
- la raison pour l'utilisation de la plante
- la source de l'information concernant le type de plantes, l'utilisation...
- mode de préparation : décoction, macération, cataplasme, cru
- mode d'utilisation : voie orale, inhalation, cataplasme
- la quantité utilisée : déterminer en gramme, estimé par d'autres outils de mesure...
- la durée du traitement par la plante utilisée.
- L'efficacité de la plante après l'utilisation.
- la connaissance de la toxicité de la plante avant et après l'utilisation.

Une liste des noms vernaculaires des plantes locales a été créée à l'aide des entretiens avec des herboristes et des tradithérapeutes de la région. Les entretiens avec les participants ont été réalisés dans les salles d'attente des centres hospitaliers, dans les souks, et même à domicile pour les personnes âgées dans les communes rurales. La langue utilisée dans les entretiens dépend de la personne, la majorité des participants parlent tamazight et arabe simultanément. Pour la corrélation entre les différentes appellations des plantes médicinales, nous avons invité les participants et les herboristes à rassembler ou montrer des échantillons des plantes et à nous renseigner sur les mélanges et les modes de préparations.

3.2 Traitement des données collectées

Les données notées sur les fiches des questionnaires brutes ont été ensuite transférées dans une base de données et traitées par le logiciel de traitement statistique Excel. Une étude quantitative a été élaborée en utilisant les paramètres cités dans les paragraphes suivants.

3.3 Les paramètres quantitatifs

3.3.1 Valeur d'usage ou « Use value » (UV)

Les UVs ont été utilisés pour déterminer le niveau d'utilisation de chaque espèce dans la zone d'étude. Ils ont été calculés à l'aide de la formule suivante :

$$UV = \frac{Um}{n}$$

Avec « Um » est le nombre total de rapports d'utilisation par espèce et « n » représente le nombre total d'informateurs interrogés pour une plante donnée.

Une valeur UV élevée pour une espèce donnée correspond à une utilisation importante de cette espèce, tandis qu'une valeur proche de zéro indique une utilisation négligeable de cette espèce (Suroowan, 2016).

3.3.2 Valeur d'usage familiale ou « Family use value » (VuF)

Le VuF a été calculé pour identifier l'importance des familles de plantes médicinales. C'est un indice d'importance culturelle qui peut être appliqué en ethnobotanique pour calculer une valeur du taxon biologique des plantes. Pour calculer le VuF, nous utilisons la formule suivante :

$VuF = \frac{UVs}{ns}$; Avec UVs correspondant à la valeur d'usage de l'espèce et ns représentant le nombre total d'espèces dans chaque famille (Sreekeesoon et al., 2014).

3.3.3 Niveau de fidélité (NF)

Le niveau de fidélité a été utilisé pour classer les espèces végétales recensées en fonction de leur efficacité relative déclarée. Nous avons calculé NF en utilisant la formule suivante (Sreekeesoon et al., 2014) :

$NF = \frac{Np}{N} * 100$; **Np** : nombre de rapports d'utilisation pour une espèce donnée, utilisés pour une catégorie d'affections particulière.

N: nombre total de rapports d'utilisation pour une espèce utilisée pour une maladie quelconque.

3.4 Critères de sélections des espèces médicinales

L'identification taxonomique des plantes collectées est définie par leurs noms botaniques en arabe, en tamazight et en français. Des spécimens ont été identifiés et déposés dans

l'herbier du laboratoire de pharmacologie, neurobiologie et comportement de l'université Cadi Ayyad de Marrakech. Le critère utilisé pour sélectionner une plante médicinale comme traitement spécifique était que cette plante soit mentionnée par plus de cinq personnes indépendantes interrogées. L'ensemble des espèces collectées et inventoriées ont été classées sous forme d'un tableau par ordre alphabétique (voir le tableau dans la section résultats).

4. Résultats

L'analyse des fiches d'enquêtes « questionnaires » menées dans les différentes localités de la province de Zagora nous a permis de collecter des données sur les espèces des plantes médicinales les plus connues et les plus utilisées par la population locale dans le traitement de certaines maladies notamment la douleur, l'inflammation, le diabète et la lithiase urinaire. En outre, nous avons inventorié les espèces de plantes reconnues comme des plantes hallucinogènes.

4.1 Données collectées sur les profils des participants

4.1.1 La tranche d'âge et le sexe des participants

Les extrêmes d'âges des participants variaient entre 20 et 90 ans. La majorité d'entre eux (25,4 %) appartenait à la tranche d'âge entre 50 et 60 ans. La tranche d'âge la moins représentée est le groupe des participants d'âge inférieur à 30 ans (14,47 %) (Figure 6). Les femmes représentaient 55,54 % de l'ensemble de la population étudiée, par rapport aux hommes avec un pourcentage de 44,57 %.

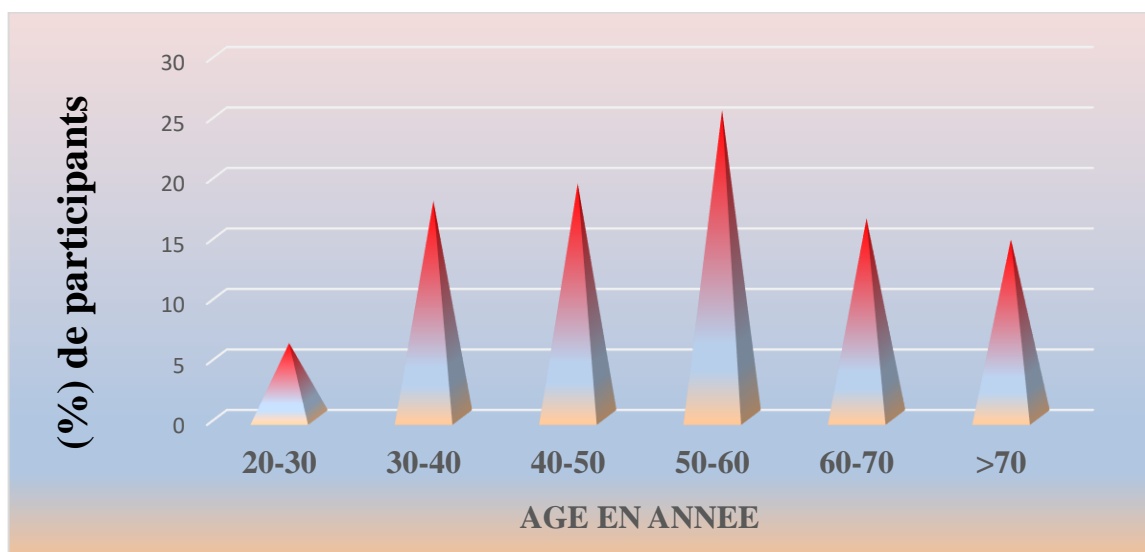


Figure 6 : profil des participants en fonction de la tranche d'âge.

4.1.2 Niveau d'études des participants

Dans la zone d'étude, plus que la moitié des participants sont analphabètes, avec un pourcentage de 56 % (Figure 7). Le reste des participants se répartissant entre une scolarisation primaire (27 %), suivie par niveau de scolarisation secondaire (12 %). Dans notre échantillon les personnes ayant un niveau scolaire universitaire représentent un pourcentage faible (5 %).

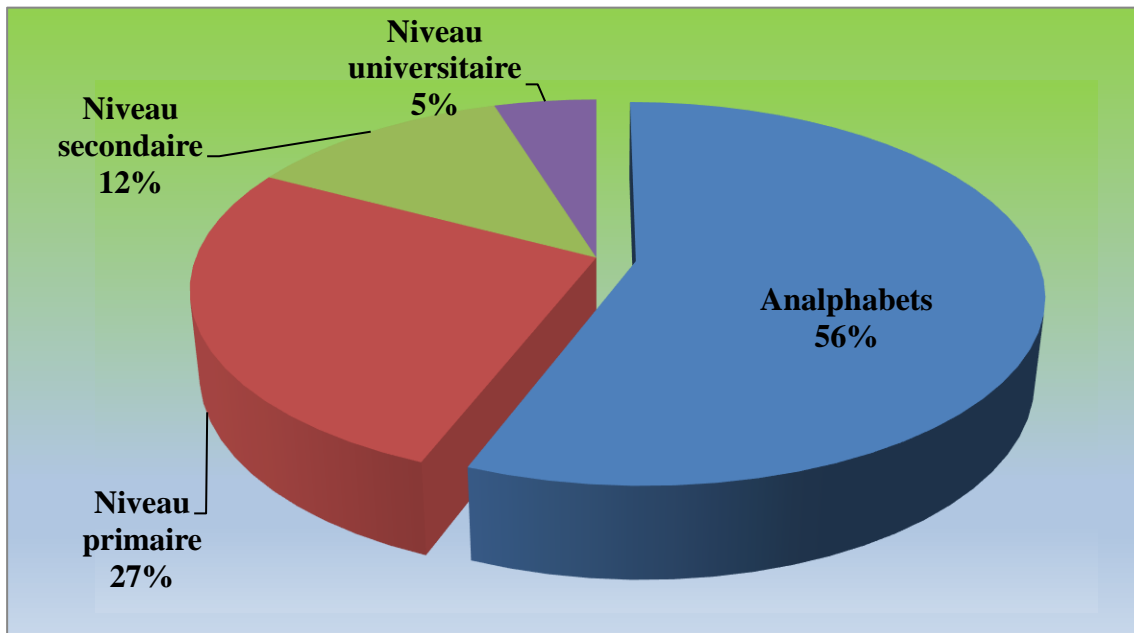


Figure 7 : Utilisation des plantes médicinales selon le niveau scolaire des participants.

4.1.3 Source d'obtention des PMs utilisées.

Selon les données représentées dans la figure 8, nous constatons que plus de la moitié des participants (51 %) obtiennent les plantes utilisées auprès des herboristes alors que 45 % de la population étudiée a obtenu les PMs utilisées dans la préparation des remèdes directement de la nature et seulement 4 % ont utilisé d'autres sources (les voisins, un membre de leur famille... etc.).

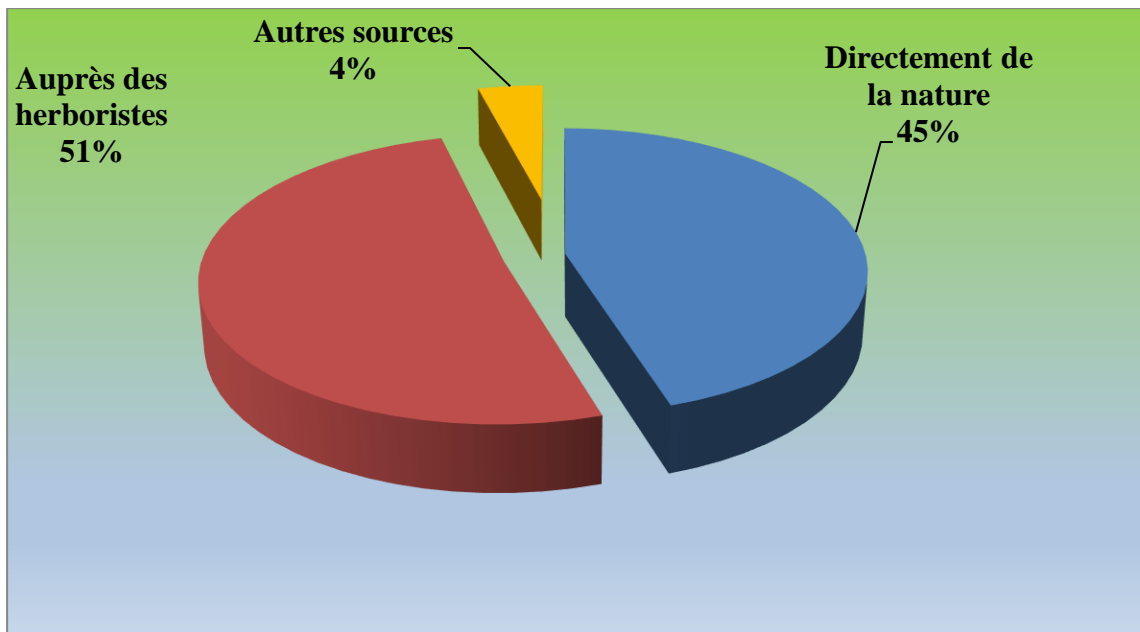


Figure 8 : Les sources d'obtention des plantes médicinales utilisées par les participants.

4.1.4 Raisons de l'utilisation et efficacité des PMs

Nous avons constaté que 85 % de la population étudiée utilisait des plantes pour soigner les douleurs (abdominales et maux de tête), 74 % pour traiter les calculs rénaux, puis 69 % pour soigner le diabète de type 2.

La population participant à cette enquête a mentionné qu'elle opte pour les plantes médicinales parce que ces plantes sont plus efficaces que les médicaments (49 %), qu'elles sont faciles à obtenir (33 %) et qu'elles sont moins chères que les médicaments modernes (18 %) (Figure 9).

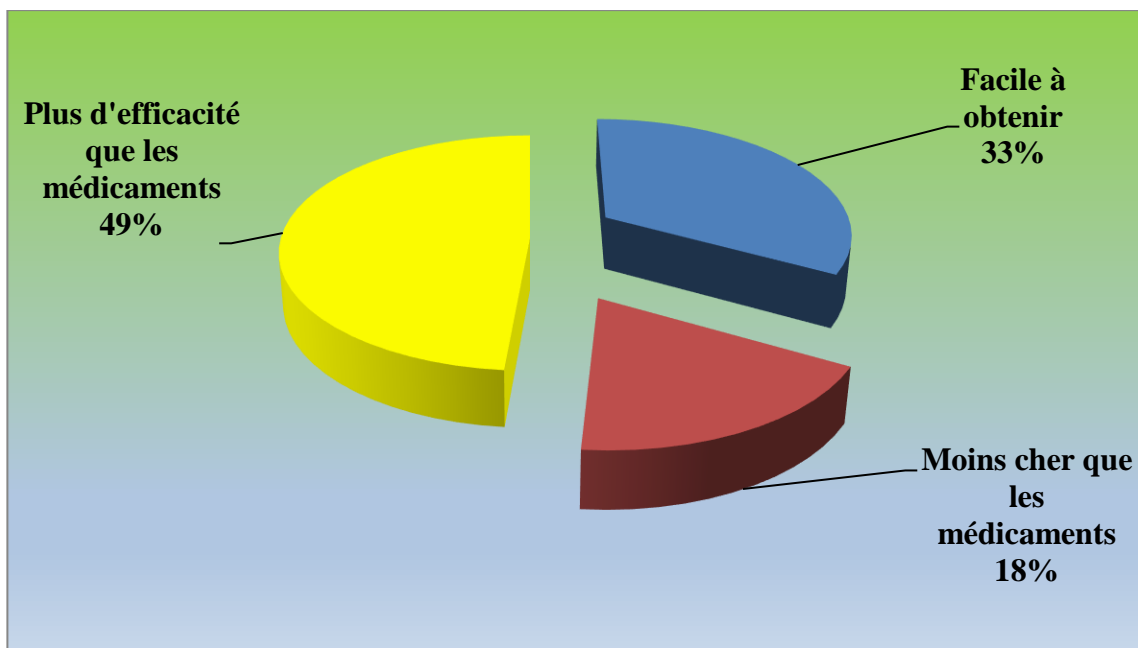


Figure 9 : Raisons de l'utilisation des PMs par les participants.

D'après l'analyse des données collectées représentées dans la figure 10, 53% des personnes interrogées indiquent que la plante médicinale utilisée soulage leurs maux. S'ensuivent (36 %) des participants qui indiquent que la plante utilisée est efficace, et seulement (11 %) des participants qui déclarent que leur état n'avait pas changé après avoir consommé le remède à bases de plantes médicinales.

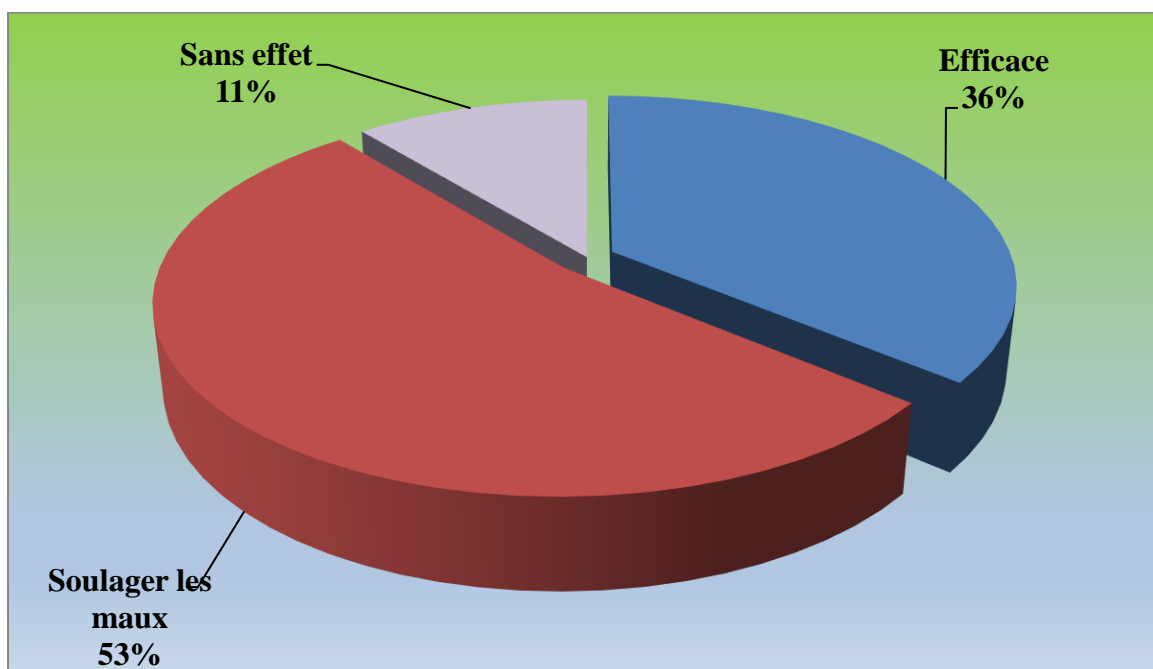


Figure 10 : L'efficacité des remèdes à base des PMs.

4.1.5 Diversité des familles de PMs recensées

Nous avons recensé 83 espèces appartenant à 40 familles, la majorité de ces espèces appartiennent à la famille des lamiacées (13 espèces), suivies des Astéracées et des Apiécées représentées par neuf espèces pour chacune d'entre elles. La famille des Chénopodiacees et les Fabacées sont représentées par trois espèces chacune. Les autres familles sont représentées seulement par deux espèces ou moins.

4.1.6 Objectifs d'utilisation des PMs par les participants

Notre enquête ethnopharmacologique a révélé que la majorité des espèces mentionnées sont utilisées pour soulager les douleurs avec un pourcentage de 40 % (Figure 11), pour le traitement du diabète avec 36 %, pour les calculs rénaux avec 15 % et pour le traitement de l'inflammation avec 7% seulement. On a remarqué que 3 % des espèces recensées sont reconnus pour leurs effets hallucinogènes.

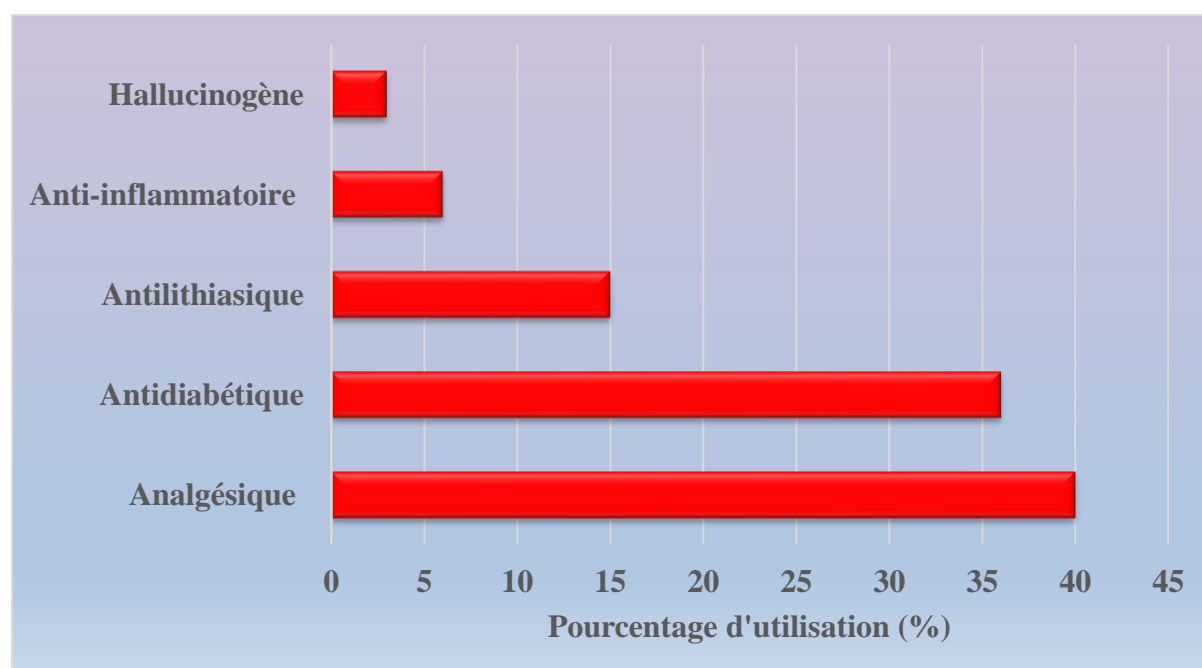


Figure 11 : Pourcentage de plantes utilisées pour traiter des maladies ou ayant des effets spécifiques.

4.1.7 Parties de PMs utilisées dans la préparation des remèdes

Notre étude a montré que les feuilles des PMs sont les parties les plus utilisées avec un pourcentage de 33 % ; viennent ensuite les parties aériennes (14 %), puis les racines (8 %), puis les fleurs, tiges, les bulbes et péricarpes (2 %) et enfin les stigmates, gommés, les clous de girofle et les écorces (1 %).

4.1.8 Méthodes de préparation des remèdes

Dans la zone d'étude, les remèdes sont préparés essentiellement par décoction (39 %), par infusion (26 %) et sous forme de poudre (22 %). Les autres méthodes (Tisane, brute, boisson, macération, fumigation et extraction d'huile) constituaient moins de 13 % (Figure 12). La plupart des préparations se prendraient oralement, et parfois par des voies spécifiques (inhalation, cataplasme).

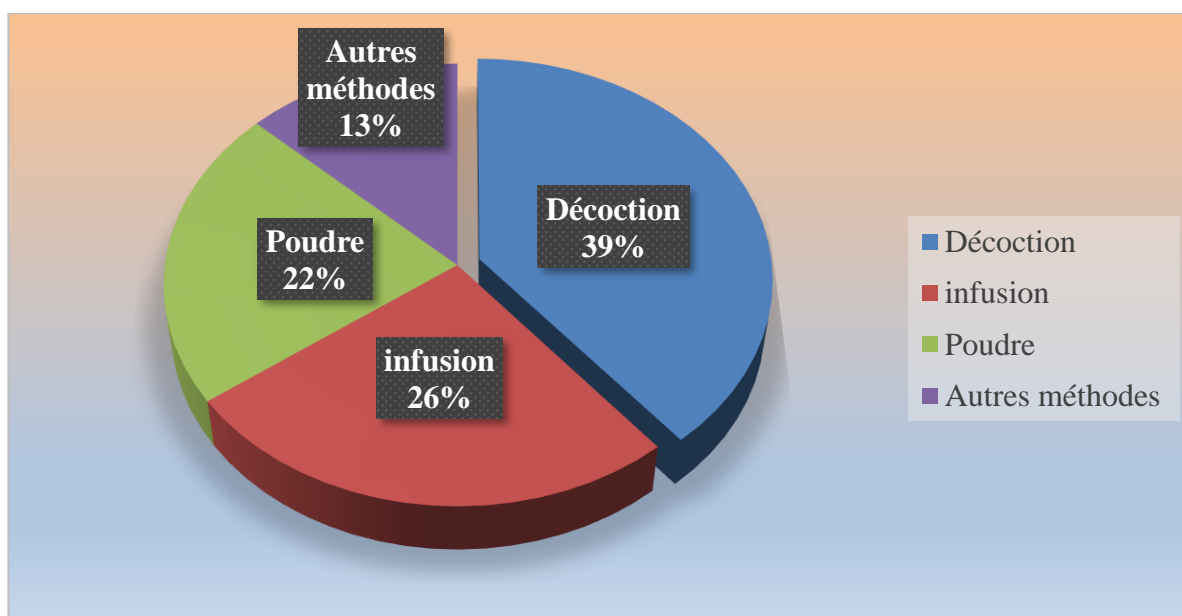


Figure 12 : Les différentes méthodes de préparation des remèdes à base de PMs.

4.1.9 Durée de traitement par les remèdes

Nous avons remarqué que la durée du traitement n'était pas précisément définie par les participants et même par certains tradithérapeutes locaux. La durée de traitement recommandée varie selon le type de la maladie et l'âge du patient. Cette durée allant de quelques jours jusqu'à des mois.

4.1.10. Données sur la toxicité

Le résultat de l'enquête a révélé que seulement 14,64 % de la population interrogée ont indiqué qu'ils possédaient des informations sur la toxicité des PMs utilisées (Figure 13). L'analyse du questionnaire a permis d'identifier douze espèces déclarées par des participants comme potentiellement toxiques. Parmi ces espèces, nous citons : *Citrullus colocynthis* L ; *Nerium oleander* L ; *Hyoscyamus muticus* L ; *Calotropis procera* L ; *Chenopodium ambrosioides* L ; *Trigonella foeniculum-graecum* L ; *Datura stramonium* L ; *Cotula cinerea* L ; *Zygophyllum gaetulum* L ; *Carum carvi* L et *Inula graveolens* L.

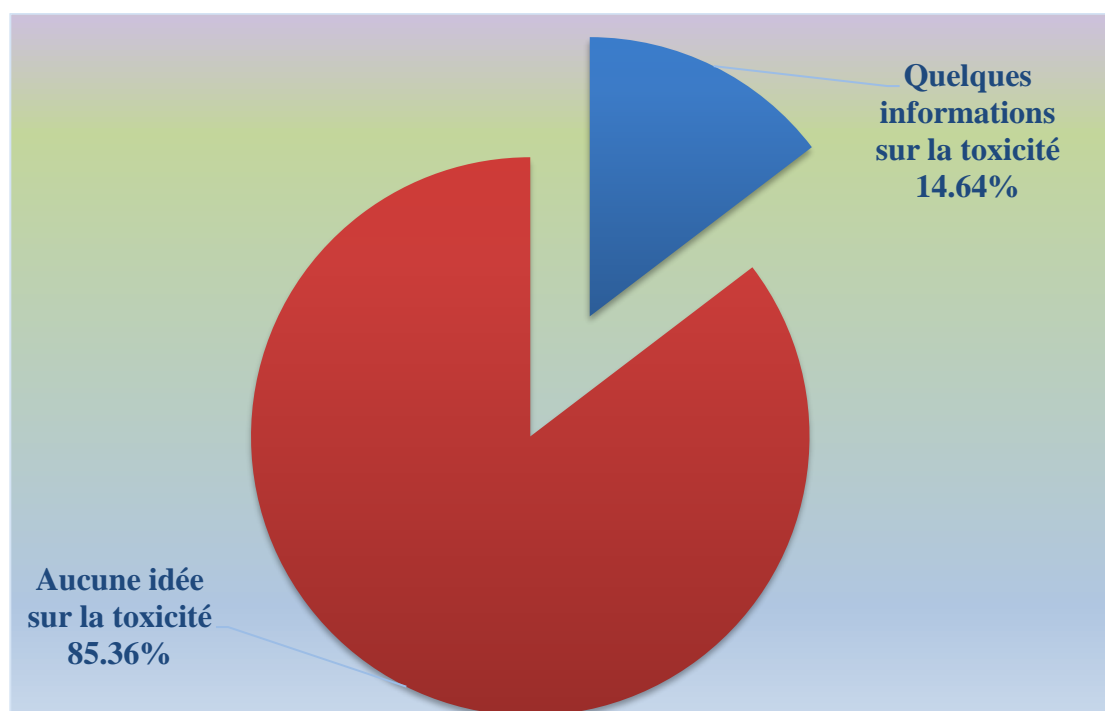


Figure 13 : Connaissance des informations sur la toxicité des PMs utilisées.

Les participants ont annoncé quelques effets secondaires liés à l'usage de certaines PMs. Par exemple l'utilisation de *Citrullus colocynthis* et *Chenopodium ambrosioides* s'accompagne de signes secondaires telque vomissements, malaise, douleurs abdominales, vertige, allergie et tremblement. L'usage de certaines préparations obtenues à partir de *Trigonella foeniculum-graecum* L et de *Nerium oleander* L, n'est pas souhaitable chez les femmes enceintes, car ces plantes sont jugées amères et susceptibles d'être abortives. L'usage de grande quantité de *Hyoscyamus muticus* L et *Datura stramonium* L provoque l'apparition d'hallucinations auditives et visuelles auxquelles l'on pourrait remédier avec un bain tiède ou la prise de lait frais.

4.2 Résultats des analyses quantitatives

Les données collectées à travers les questionnaires ont été analysées quantitativement en utilisant la valeur d'usage ethnobotanique (Vu), le niveau de fidélité ethnobotanique (NF) et la valeur d'usage familiale (VuF).

4.2.1 La valeur d'usage (Vu) ou use value (UV)

D'après les données collectées, l'estimation de la valeur d'usage (UV) pour chaque espèce nos permet de classer les différentes espèces en trois classes :

- ❖ La 1^{re} classe qui inclut 65 espèces de plantes ayant des valeurs d'usages qui se situent entre 0,01 et 0,1.
- ❖ La 2^e classe avec des gammes des valeurs d'usages ethnobotaniques entre 0,1 et 0,29 comprend 13 espèces.
- ❖ La 3^e classe avec les valeurs d'usage les plus élevées (les valeurs qui dépassent 0,3) comprend les espèces suivantes : *Zygophyllum gaetulum* L (0,44), *Nigella sativa* L (0,36), *Rosmarinus officinalis* L (0,36), *Trigonella foenum-graecum* L (0,35), *Thymus satureioides* L (0,35) et *Lawsonia inermis* L (0,30).

Notons que les valeurs d'usage les plus élevées ont été enregistrées pour les espèces utilisées dans le traitement de différents types de douleurs notamment les douleurs abdominales et les maux de tête. Néanmoins, les valeurs d'usage les plus faibles ont été enregistrées pour les espèces suivantes : *Mallus communis* L, *Prunus dulcis* Mill, *Brassica napus* L, *Myrtus communis* L, *Pennisetum typhoides* L, *Ceratonia siliqua* L et *Hordeum vulgare* L.

4.2.2 Niveau de fidélité (NF)

Les valeurs du niveau de fidélité ethnobotanique (NF) ont été calculées afin de déterminer les espèces les plus fréquemment utilisées pour chaque catégorie de maladie (tableau III). Selon nos résultats, les valeurs des niveaux de fidélités calculées variaient de 55,26 % à 100 %. Pour les plantes à effet analgésique on dénombre deux espèces ayant un niveau de fidélité le plus élevé : *Chenopodium ambrosioides* L et *Ammadaucus leucotrichus* L. Pour traiter l'inflammation, deux espèces ayant une valeur de NF élevée étaient *Lawsonia*

inermis (83,46 %) et *Olea europaeae L* (81,68 %). Pour traiter le diabète, nous avons noté une valeur de NF maximale (100%) pour deux espèces de plantes à savoir *Herniaria cinerea DC* et *Opuntia ficus*. Par ailleurs ,cinq espèces de plantes utilisées pour traiter les calculs rénaux possèdaient une valeur de **NF** de 100 % : *Phoenix dactylifera L*, *Zea mays L*, *Homolothecium aureum L*, *Herniaria cinerea L* et *Acacia raddianna L*.

Tableau III : Niveau de fidélité (NF) des PMs utilisées par la population.

Catégories	Nom scientifique des espèces de PMs	Niveau de fidélité (%)
Douleur (Abdominale et maux de tête)	<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	100
	<i>Ammadaucus leucotrichus</i> Coss.Durieu	100
	<i>Carum carvi</i> L.	85,65
	<i>Inula graveolens</i> L.	74,70
	<i>Thymus vulgaris</i> L.	73,26
	<i>Cotula cinerea</i> L.	73,12
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	68,06
	<i>Thymus satureioides</i> L.	66,93
	<i>Crocus sativus</i> L.	58,76
	<i>Zygophyllum gaetulum</i> L.	51,36
Anti-inflammatoire	<i>Lawsonia Inermis</i> L.	83,46
	<i>Olea europeae</i> L.	81,68
Diabète	<i>Herniaria cinerea</i> DC	100
	<i>Opuntia ficus</i> L.	100
	<i>Citrillus colocynthis</i> L.	88,77
	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill	78,20
	<i>Allium sativum</i> L.	61,85
	<i>Mentha pulegium</i> L.	56,80
	<i>Allium cepa</i> L.	55,26
Calculs rénaux	<i>Phoenix dactylifera</i> L.	100
	<i>Zea mays</i> L.	100
	<i>Homolothecium aureum</i> L.	100
	<i>Herniaria cinerea</i> L.	100
	<i>Acacia raddianna</i> L.	100
	<i>Echinops spinosa</i> L.	77,77

4.2.3 Valeur d'usage familiale (Family use value) « VuF »

La **VuF** se situait entre la valeur la plus basse (0,01) et la valeur la plus élevée (0,36). Nous avons recensé trente-deux familles (32) avec une valeur de VuF qui se situait entre 0,01

et 0,1. Par ailleurs, seulement deux familles avec une VuF entre 0,1 et 0,2 et cinq familles avec une **VuF** supérieure à 0,2 (Tableau IV). La famille des Ranunculacée possédait la valeur de **VuF** la plus élevée (0,36), suivie successivement par la famille des légumineuses (0,35), des lythracées (0,30), des zygophyllacées (0,23) et des oléacées (0,20).

4.3 Liste des plantes médicinales utilisées par les participants

Nous avons recensé 50 espèces de plantes médicinales utilisées dans le traitement des différents types de douleur chez la population de Zagora. Parmi les cinq espèces les plus fréquemment citées, nous trouvons : *Zygophyllum gaetum L*, *Thymus saturioides L*, *Ammodaucus leucotrichus (Coss. Durieu)*, *Rosmarinus officinalis L*, *Nigella sativa L*. L'analyse des fiches de questionnaires a permis d'inventorier 45 espèces à effet antidiabétique, parmi ces plantes nous citons : *Nigella sativa L*, *Trigonella foeniculum graecum L*, *Artemisia huguetii L*, *Zygophyllum gaetulum L*, *Allium sativum L*, et *Hammada scoparia L*.

Pour le traitement des calculs rénaux, nous avons répertoriées 19 espèces. Les plus couramment citées sont : *Acacia tortilis gum*, *Hemiaria cinerea* ; *Zea mays* ; *Phoenix dactylifera L* ; *Nigella sativa L* ; *Homolothecium aureum L*. Pour soulager les inflammations, les participants ont recommandé les espèces suivantes : *Lawsonia inermis* ; *Zygophyllum gaetulum L* ; *Carum carvi L* ; *Olea europaea L* ; *Hammada scoparia L*. Les plantes qui ont été identifiées comme ayant des effets hallucinogènes appartiennent à trois espèces, à savoir *Hyoscyamus muticus L*, *Datura stramonium L* et *Myristica fragrans L*.

L'ensemble des espèces citées par les participants ainsi que les données d'usages rapportées concernant les parties utilisées, les modes de préparation, les voies d'administration, les maladies traitées et les indices ethnobotaniques calculés sont présentées dans le tableau IV.

Tableau IV : Liste des plantes médicinales utilisées par la population de la province de Zagora ; AN : analgésique, AI : anti-inflammatoire, AD : antidiabétique, Al : antilithiasique, HL : hallucinogène, Nc : nombre de citations, UV : valeur d'usage ethnobotanique, VUF : valeur d'usage familiale

Les familles botaniques	Les espèces	Nom Vernaculaire	La partie de la plante utilisée	Méthode de préparation	Voie d'administration de remèdes	Utilisation thérapeutique					Nc	Vu	VUF
						AN	AI	A D	A L	HL			
Astéracée	<i>Artemisia absinthium</i> (L.)	Chiba الشيبيا	Pa Feuilles	Décoction Infusion	Orale			X			54	0,04	0,07
	<i>Artemisia huguetii</i> (Caball.)	Izri Chihh الشيح	Feuilles	Décoction	Orale	X		X			183	0,13	
	<i>Cotula cinerea</i> (Delile)	Gertouf الكرتوفة Wazwaza	Pa Feuilles	Poudre Infusion	Orale	X		X	X		294	0,21	
	<i>Matricaria Chamomilla</i> (L.)	Babunj البابونج	Fleurs	Infusion Poudre	Orale			X			33	0,02	
	<i>Warionia saharae</i> Benth & Coss	Afezdad أفساس	Feuilles	Décoction	Orale	X		X			42	0,03	
	<i>Launaea arborescens</i> (Batt) Murb	Ferskl / فرسكال فرسكل Oumlbina	Racines	Décoction	Orale			X			19	0,01	
	<i>Echinops spinosa</i> (L.)	Tskra تسكرا	Pa Racines	Décoction	Orale			X	X		54	0,04	
	<i>Carlina gummifera</i> (L.)	Addad اداد	Racines	Décoction	Orale	X					17	0,01	

	<i>Inula graveolens</i> (L.) Desf	Lmighezl Lmghezil المغيزل	Pa Feuilles	Poudre Décoction	Orale	X		X			253	0,18	
Apiécée	<i>Ammodaucus leucotrichus</i> (Coss. Durieu)	Kemoun soufi الكمون الصوفي	Graines	Powder	Orale	X		X	X		215	0,15	
	<i>Petroselinum hortense</i> Hoff	Maadnous المعدنوس	Pa Graines	Decoction	Orale	X		X	X		107	0,08	
	<i>Carum carvi</i> (L.)	Lkerwit-Lkrwiya الكروية	Graines	Décoction	Orale	X	X				251	0,18	
	<i>Cuminum cyminum</i> (L.)	Lkmmoun الكمون البلدي	Graines	Poudre	Orale	X					35	0,03	
	<i>Pimpinella anisum</i> (L.)	Habbat hlawa حبة حلاوة	Graines	Décoction Poudre	Orale	X					27	0,02	
	<i>Foeniculum vulgare</i> (Mill.)	Nefaa, Besbass النافع، البسباس	Graines	Décoction	Orale			X	X		78	0,06	0,02
	<i>Firula communis</i> (L.)	Fassoukh, Elfasoukh الفاسوخ	Fruit	Fumigation	Inhalation	X					16	0,01	
	<i>Apium graveolens</i> (L.)	Lkrafess الكرافس	Feuilles	Décoction	Orale				X		20	0,01	
Asclépiadacée	<i>Calotropis procera</i> (Aiton)	Tawrzat تابورجينت	Feuilles	Cuit	Cataplasme	X					37	0,03	0,03
Apocynacée	<i>Nerium oleander</i> (L.)	Alili- Defla الدفلة	Feuilles	Décoction	Utilisation externe	X					43	0,03	0,03

Brachythecia- ceae	<i>Homolothecium aureum</i> (Spruce) H. Rob	Senbl السنبل Senbel	Feuilles	Infusion	Orale				X		62	0,04	0,04
Brassicacée	<i>Brassica napus</i> (L.)	Left الفت	Racines	Aliment	Orale			X			8	0,01	0,02
	<i>Lepidium sativum</i> (L.)	Heb rchad	Graines	Infusion	Orale	X		X			23	0,02	
Cactacée	<i>Capparis spinosa</i> (L.)	Lkbbbar, Akkabar الكبار	Fruit	Macération	Orale				X		11	0,01	0,03
	<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill	Drag, hindya lhendi, aknari الهندية	Fruit	Cru	Orale			X			66	0,05	
Caryophyllacée	<i>Herniaria cinerea</i> DC.	Herrasst lhjer حراست الحجر	Pa/Feuille	Décoction	Orale				X		74	0,05	0,05
Chénopodiacée	<i>Hammada scoparia</i> (Pomel) Iljin	Assay, Remt, Rmt الرمت	Feuille/ Graines	Décoction	Orale	X	X	X			208	0,15	0,12
	<i>Bassia muricata</i> (L.) Asch	Tasnant تاسنانت	Pa/Feuille	Infusion	Orale			X			15	0,01	
	<i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.)	Twjant Lmkhinza المخينزة	Feuilles	Boisson Poudre Cataplasme	Orale	X					311	0,22	
Cistacée	<i>Cistus creticus</i> (L.)	Irgl ارغل	Graines	Poudre	Orale				X		41	0,03	0,03
Cucurbitacée	<i>Cucurbita maxima</i> (L.)	Akhssay Lgeraa الكرعة	Fruit Graines	Aliment Décoction	Orale	X		X			27	0,02	0,04
	<i>Citrullus colocynthis</i> (L.)	Hedja-hdej Aferziz الحدجة	Fruit Graines	Décoction Macération	Orale	X		X			98	0,07	

Cupressacée	<i>Tetraclinis articulata</i> Benth.	Azoukka Alaaraa العرعار	Pa/Feuille	Poudre	Orale				X		42	0,03	0,03
Euphorbiacée	<i>Euphorbia officinarum</i> (L.)	Dghmouss, Tikiwt الدغموس	Pa	Poudre	Orale			X			44	0,03	0,03
Ephedraceae	<i>Ephedra alata</i> Decne	Tamatrt Tamatart تماترت	Feuilles	Décoction Poudre	Orale			X			26	0,02	0,02
Fabacée	<i>Acacia ehrenbergiana</i> (Hayne)	Telh الطلح	Feuilles	Décoction	Orale	X					36	0,02	0,05
	<i>Acacia tortilis</i> subsp. <i>raddiana</i> Brenan	Laalka, Tifiza العلك	Gomme	Infusion	Orale				X		170	0,12	
	<i>Ceratonia siliqua</i> (L.)	Tikidda Khrroub الخروب	Fruit	Poudre Infusion	Orale	X					11	0,01	
Fumariacée	<i>Fumaria officinalis</i> (L.)	Khoubiza, Bakoula الخبيزة	Pa Feuilles	Aliment	Orale	X		X			22	0,02	0,02
Graminée	<i>Pennisetum typhoides</i> (stapf)	Illan ايلان	Graines	Décoction	Orale	X					9	0,01	0,01
Iridacée	<i>Crocus sativus</i> (L.)	Zaafran hour الزعفران الحر	Stigmate	Infusion	Orale	X		X			388	0,28	0,28
	<i>Ajuga iva</i> (L.)	Chendgura Timnraozenkd شندكورة	Pa Feuilles	Décoction	Orale			X			59	0,04	
	<i>Lavandula officinalis</i> (Chaix)	Lkhzama الخزامة	Feuilles	Décoction	Orale	X					71	0,05	

Lamiacée	<i>Marrubium vulgare</i> (L.) <i>Marrubium deserti</i> (De Noe) Coss.	مريوة ، مريوت مريوت Mriwa – Ifzi	Pa Feuilles	Décoction Infusion	Orale			X			55	0,04	0,10
	<i>Punica granatum</i> (L.)	Kchour rman قشور الرمان	Péricarpe	Powder Décoction Infusion	Orale	X		X			75	0,05	
	<i>Mentha spicata</i> (L.)	التنعاع Likamt	Stem Feuilles	Infusion	Orale	X					37	0,03	
	<i>Mentha suaveolens</i> (Ehrh.)	Timiija – Timja تيمجا - تيمييجا	Feuilles	Infusion Décoction Powder	Orale	X					192	0,14	
	<i>Mentha pulegium</i> (L.)	Flou -taf layut فليو -تقليوت	Feuilles	Infusion	Orale	X		X			125	0,09	
	<i>Thymus satureioides</i> (L.)	Azokni – Zaatar الزعتار	Pa Feuilles	Décoction Poudre	Orale	X		X			496	0,35	
	<i>Thymus vulgaris</i> (L.)	Zaaitra الزعيترة	Pa Feuilles	Décoction	Orale	X		X			202	0,14	
	<i>Rosmarinus officinalis</i> (L.)	Azzir, Assil ازير، أسير، أسيل	Feuilles	Poudre Décoction Infusion	Orale	X		X	X		501	0,36	
	<i>Salvia officinalis</i> (L.)	Salmia السالمية Essalmiya	Feuilles	Infusion Powder	Orale	X		X			62	0,04	
	<i>Origanum majorana</i>	Merdeddouch	Feuilles	Infusion	Orale	X					54	0,04	

	(L.)	مردوش											
	<i>Ocinum basilium</i> (L.)	لحباق لhbek lbeldi	Feuilles	Décoction	Orale	X					21	0,02	
Lauracée	<i>Cinamomum Cassia</i> (L.)	لقرفة Lkerfa	Écorce	Infusion	Orale	X					34	0,02	0,02
Fabacée	<i>Trigonella foenum-graecum</i> (L.)	Lhelba- Tifidass الحلبة	Graines	Poudre Décoction	Orale	X		X	X		489	0,35	0,35
Liliacée	<i>Asphodelus tenuifolius</i> (Cav.)	Tazia طازية Tuzyit	Feuilles Fruit	Décoction	Orale	X		X			25	0,02	0,02
Liliacée	<i>Allium sativum</i> (L.)	Touma الثومة Tiskert	Bulbe	Décoction Brute	Orale		X	X			97	0,07	0,06
	<i>Allium cepa</i> (L.)	البصل، البصلة Lbsel Tazalim Azalim	Bulbe Graines	Mélangé avec du cumin Décoction	Orale	X		X	X		76	0,05	
Linacée	<i>Linum usitatissimum</i> (L.)	Zarriat Alkettane زربعت الكتان	Graines	Infusion	Orale	X					15	0,01	0,01
Lythracée	<i>Lawsona inermis</i> (L.)	Henna Lhenna الحنة	Feuilles Pa	Poudre Décoction	Orale Cataplasme	X	X				423	0,30	0,30
Moracée	<i>Ficus carica</i> (L.)	Chrihha- Tazart Lkermouss الكرموسة، تزارت	Fruit	Brute	Orale			X			13	0,01	0,01
Myristicacée	<i>Myristica fragrans</i> (Houtt)	Gouza الكوزة El-Gouza	Graines	Poudre Infusion	Orale	X				X	24	0,02	0,02

Myrtacée	<i>Eugenia caryophyllata</i> (Thunb.)	Quorenfel القرفة	Girofle	Brute Infusion	Utilisation Externe	X					42	0,03	0,02
	<i>Myrtus communis</i> (L.)	Rihane الريحان	Feuilles	Décoction	Oral	X					8	0,01	
Oléacée	<i>Olea europaea</i> (L.)	Zetoun الزيتون Zit	Fruit Feuilles	Extraction d'huile Décoction	Massage Orale		X	X			273	0,20	0,20
Palmacée	<i>Phoenix dactylifera</i> (L.)	Tmer Agjouf Nkhl النخل	Fruit Graines Fleur mâle	Brute Infusion Tisane	Orale			X	X		105	0,08	0,08
Poacée	<i>Hordeum vulgare</i> (L.)	Chaair Tomzin الشعير	Fruit Graines	Décoction	Orale			X			10	0,01	0,03
	<i>Zea mays</i> (L.)	Zgheb logbal زغب/ صوف اللكبال	Stigmate	Décoction Infusion	Orale				X		67	0,05	
Renonculacée	<i>Nigella sativa</i> (L.)	Chanouj Lhebba souda لحية السوداء Hebbat Ibaraka	Graines	Powder Décoction	Orale	X	X	X	X		505	0,36	0,36
Rhamnacée	<i>Ziziphus lotus</i> (L.)	Azgar- Tazgart- Sedra الذبيك	Fruit Racines	Powder Décoction Infusion	Orale			X	X		95	0,07	0,07
Rosacée	<i>Prunus dulcis</i> (Mill)	Imirzig Louz har لوز حار	Graines	Décoction	Orale			X			6	0,00	0,004
	<i>Mallus communis</i>	Tfah	Fruit	Tisane	Orale				X		5	0,00	

	(Poir.)	تفاح									4		
Rubiacee	<i>Rubia tinctorum</i> (L.)	Lfouwa الفوة	Racines	Décoction	Orale				X		29	0,02	0,02
Rutacee	<i>Citrus vulgaris</i> (Risso)	Limoun mer Fechfach قشور الليمون	Péricarpe	Infusion	Orale	X					32	0,02	0,02
	<i>Ruta chalepensis</i> (L.)	Lfjel أورمي Awermi	Pa	Décoction	Orale			X			41	0,03	
Solanacee	<i>Datura stramonium</i> (L.)	Chdeq jmel Taborjint تابورجينت	Feuilles Graines	Décoction Fumée	Orale					X	42	0,03	0,06
	<i>Hyoscyamus muticus</i> (L.)	Elbtima Lbtima- sekran Saykran البثيمة	Feuilles Racines Graines	Infusion Fumée	Orale Inhalation					X	121	0,09	
Verbénacée	<i>Aloysia citriodora</i> (Palau)	Elwiza Lwizza اللويزة	Feuilles	Infusion	Orale	X					53	0,04	0,03
	<i>Vitex agnus-castus</i> (L.)	Lkherwaa الخروع Angaref	Feuilles Fruit	Infusion	Orale			X			34	0,02	
Zingibéracée	<i>Alpinia officinarum</i> (Hance)	Khodinjan خذنجان	Racines	Powder Décoction	Orale	X					51	0,04	0,04
	<i>Zingiber officinale</i> (Roscoe)	Skinjbir سكينجبير	Racines	Infusion	Orale	X					67	0,05	
	<i>Peganum harmala</i> (L.)	Lhermal الحرمل	Graines	Poudre avec huile d'olive	Orale	X					40	0,03	

5. Discussion

L'analyse des données de l'enquête réalisée au sein de la communauté de Zagora nous ont permis de recenser 83 espèces de plantes utilisées dans le traitement de la douleur, de l'inflammation, du diabète et de la lithiase urinaire. Trois espèces de plantes ont été recensées pour ces effets hallucinogènes. La majorité des espèces recensées dans notre étude appartiennent à la famille des lamiacées. Cette famille occupe une place importante parmi les plantes du Maroc ; elle comprend plus de 226 espèces distribuées dans différentes régions à l'échelle nationale (**Fennane, 1987**). Les espèces appartenant à cette famille sont largement reconnues et utilisées par les populations d'autres régions du Maroc (**Abouri et al., 2014 ; Doukkali et al., 2015 ; Abouri et al., 2016**). D'après nos résultats, l'utilisation des remèdes à base des PMs concerne toutes les catégories d'âge, mais avec des fréquences différentes. Nous avons constaté que l'utilisation de ces traitements débute à un âge précoce, la tranche d'âge entre 30 et 40 ans est la plus représentée parmi les participants. Ces résultats pourraient être expliqués par la relation étroite qui existe entre la progression de l'âge et l'apparition des pathologies tels que le diabète, la lithiase urinaire et les douleurs inflammatoires (**Ossama et al., 2000 ; Errajraji et al., 2010 ; Prasad et al., 2012**). Les données de la littérature confirment l'utilisation traditionnelle de la majorité de ces espèces recensées. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus à d'autres études ethnobotaniques menées dans les différentes régions du Maroc. La majorité de ces études déclarent l'importance de l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement des maladies (**Salhi et al., 2010 ; Doukkali et al., 2015**). Par ailleurs, les personnes de plus de 50 ans ont plus de connaissance traditionnelle que les jeunes habitants ; ces connaissances sont généralement acquises à la suite d'une longue expérience transmise d'une génération à une autre (**Saadi et al., 2013**). Les femmes ont un peu plus de connaissance et de savoir-faire sur l'utilisation des plantes médicinales que les hommes. Ces résultats confirment les résultats d'autres travaux ethnobotaniques réalisés à l'échelle nationale, qui ont révélé que les femmes possèdent un savoir phytothérapeutique traditionnel plus important que les hommes (**Jaoued et al., 1992 ; Ziyat et al., 1997**). La dominance féminine peut être expliquée par le fait que les femmes sont très attachées aux connaissances traditionnelles, le niveau de l'analphabétisme chez les femmes par rapport aux hommes, le fait de connaître l'art de guérir en utilisant les PMs renforce le statut des femmes dans leur société font que les femmes sont toujours les premières concernées dans l'intervention si l'un des membres de la famille tombe malade (**Jaoued, 1992**). De même, les femmes sont responsables de la transmission du patrimoine traditionnel principalement par la voie mère-fille (**Nabih, 1992 ; Trivellatograssi et al., 2013**).

Les feuilles constituent les parties les plus utilisées dans la préparation des remèdes à base des plantes. Le pourcentage élevé d'usage de feuilles peut être expliqué par la facilité de récolte et la rapidité de broyage des feuilles par rapport aux racines et les tiges par exemple. Les feuilles sont aussi le siège des réactions photosynthétiques aboutissant à la production et de stockage des métabolites secondaires qui peuvent être responsable des propriétés biologiques **(Salhi et al., 2010)**.

La décoction ainsi que l'infusion sont souvent les méthodes les plus utilisées dans la préparation des remèdes utilisées par la population de Zagora. La simplicité de ces méthodes peut expliquer leur domination par rapport aux autres méthodes de préparation. De plus, la population croit que la décoction permet de recueillir davantage de principes actifs, participe à la régulation de la température corporelle, désinfecte la plante et atténue dans certains cas l'effet toxique de la plante **(Lahsissène et al., 2010)**. Nous avons constaté la prédominance de la voie orale dans l'administration des remèdes. Cette abondance peut être expliquée par la facilité d'utilisation ; la majorité des patients acceptent le plus souvent un traitement par voie orale plutôt que par une autre voie **(Benarba et al., 2016)**.

Cette enquête a révélé, pour la première fois, que le traitement de la douleur constitue l'objectif principal d'utiliser les PMs par la population locale. Nos résultats montrent que la plupart des espèces inventoriées reconnues comme des plantes à effet analgésique. Des études expérimentales antérieures ont confirmé le pouvoir analgésique de certaines de ces espèces. A cet égard, l'extrait éthanolique de *Chenopodium ambrosioides* permet de réduire la nociception dans les deux phases du test au formol chez les animaux **(Calado et al., 2015)**. Cet effet analgésique peut contribuer à la présence des composants de l'ascaridole **(Trivellato Grassi et al., 2013)**. Nous avons constaté que *Zygophyllum gaetulum* est parmi les espèces les plus indiquées contre les douleurs abdominales. Ces données ont été supportées par une étude expérimentale qui a montré que l'extrait de *Zygophyllum gaetulum* était capable d'atténuer la douleur chez les animaux dans les différents tests de nociception **(Capasso et al., 1998)**.

Le traitement des calculs rénaux constituait la deuxième raison pour utiliser des remèdes à base des PMs. Le développement des calculs rénaux est un phénomène multifactoriels lié à la physiologie et l'environnement de la personne. Cependant, l'analyse de la composition chimique de l'eau dans la province de Zagora montre l'existence de concentrations élevées de minéraux

qui peuvent contribuer à un volume d'urine élevé et par conséquent à l'augmentation de risque de cristallisation de l'oxalate de calcium (Grases et al., 2006). De même, Park et al. (2015) démontre que la consommation de quantités faibles d'eau et l'augmentation importante de la température pendant l'été peuvent être également parmi les facteurs qui induisaient l'augmentation de la concentration des minéraux dans les urines et par conséquent l'accroissement de risque de formation des calculs rénaux.

D'après les données de cette étude, plusieurs espèces ont été recensées pour leur activité antiurolithiasique. L'efficacité de ces plantes contre les calculs rénaux peut être expliquée par la présence des flavonoïdes, des saponosides et des tanins. Ces phytoconstituants peuvent être associés à des calculs rénaux pour donner naissance à des complexes plus solubles que les calculs seuls facilitant ainsi leur dissolution ou leur expulsion à l'extérieur par la voie urinaire (Meiou et al., 2011). D'autres études montrent que les métabolites secondaires des végétaux peuvent inhiber le phénomène d'agrégation des microcristaux de l'oxalate de calcium monohydrate et de cristaux de CaOx dans les reins (Beghalia et al., 2008 ; Bensekrane et al., 2014).

Le diabète sucré (DT2) représente la troisième raison d'utiliser les PMs par la population de cette province ; nos résultats confirment les études précédentes qui montrent que le traitement du diabète par les PMs est très fréquent dans l'Est et le Sud-Est du Maroc notamment dans la province d'Er-Rachidia et Tafilalet avec une prévalence d'usage varie entre 78 % et 80 % respectivement (Eddouks et al., 2002 ; Tahraoui et al., 2007). Des études pharmacologiques ont confirmé l'efficacité antidiabétique de certaines espèces. En effet, l'activité hypoglycémiante de l'extrait de *Zygophyllum gaetulum* a été confirmée cliniquement chez des patients atteints de diabète sucré non insulino-dépendant (Jaouhari et al., 1999). D'après une étude récente, l'extrait de graines de *phoenix dactylifera* a été capable de réguler l'activité enzymatique de l' α -glucosidase et de l' α -amylase ces deux enzymes métaboliques interviennent dans la régulation de la glycémie (Khan et al., 2016). D'autres études expérimentales ont confirmé l'effet antidiabétique de plantes notamment *Nigella sativa* (Alimohammadi et al., 2013), *Allium sativum* (Eidi et al., 2006), *Carum carvi* et *Zizyphus lotus* (Eidi et al., 2010 ; Benammar et al., 2014).

Nos résultats ont révélé que certaines plantes médicinales ayant des effets antidiabétiques ont été citées pour la première fois dans l'Est du Maroc, à savoir : *Cotula cinerea* L, *Matricaria*

chamomilla L, *Warionia saharae* L, *Echinops spinosa* L, *Hammada scoparia* L, *Bassia muricata* L, *Euphorbia officinarum* L, *Ephedra alata* L, *Crocus sativus* L, *Salvia officinalis* L, *Asphodelus tenuifolius*, *Vitex agnus-castus* L et *Inula graveolens* L. La réalisation des études expérimentales est fortement recommandée pour confirmer l'usage traditionnel de ces plantes ainsi qu'extraire les composés actifs afin d'étudier les mécanismes impliqués dans leur effet pharmacologique.

Pour traiter l'inflammation sept plantes ont été recensées, parmi eux deux espèces les plus citées : *Zygophyllum gaetulum* L et *Lawsonia inermis* L. Une étude expérimentale réalisée par **Ait El cadi et al. (2012)** a confirmé l'utilisation traditionnelle de *Zygophyllum gaetulum* L. En effet, les extraits éthanoliques et aqueux de cette plante ont été capable de réduire la réaction inflammatoire dans le test des œdèmes induits par l'injection de la carragénine chez la souris (**Ait El cadi et al., 2012**). De plus, l'effet de certains composés de *Lawsonia inermis* spécifiquement lawsochyline 1 et lawsonaphthoate A ont été le sujet d'une validation expérimentale. Ces deux composés ont le pouvoir de réduire l'inflammation en inhibant la génération d'anions superoxyde impliqués dans le processus d'inflammation (**Liou et al., 2013**).

Les plantes médicinales identifiées comme ayant des effets hallucinogènes appartiennent à trois espèces, à savoir *Hyoscyamus muticus* L, *Datura stramonium* L et *Myristica fragrans* L. Des études toxicologiques antérieures confirment l'apparition des symptômes d'hallucination après l'ingestion accidentelle de doses élevée de *Hyoscyamus muticus* et de *Datura stramonium* L (**Gaire et al., 2013 ; Adamse et al., 2014**).

Très peu des participants ont fait preuve d'une bonne connaissance de la toxicité des plantes utilisées. Le laurier rose ou *Nerium oleander* L est l'une des plantes connues dans la province pour ses effets toxiques, en cas de consommation des fortes doses, en particulier chez les femmes enceintes. Cette toxicité élevée du laurier rose est due à la présence de l'oléandrine qui possède un pouvoir inhibiteur sur les pompes membranaires (Na^+/K^+ ATPasique) provoquant ainsi l'augmentation de la concentration intracellulaires des ions Ca^{2+} et Na^+ ce qui provoque des signes d'intoxication au niveau gastro-intestinal, neurologique et cardiaque (**Kumar et al., 2013**).

Hyoscyamus muticus et *Datura stramonium* sont deux espèces susceptibles d'être toxiques pour l'homme et les animaux. Cependant, une ingestion de grande quantité cause la mortalité chez les enfants.

Notre étude a montré que certaines plantes ont été citées pour la première fois comme toxiques nous citons : *Hyoscyamus muticus* L ; *Calotropis procera* ; *Carum carvi* ; *Trigonella foeniculum-graecum* L et *Inula graveolens*.

Les résultats obtenus dans notre enquête concordent avec les résultats d'une autre étude menée dans la région de Fès (**Zeggwagh et al., 2013**). Les données de cette enquête montrent que seulement 12 % des participants annoncent qu'ils ont une connaissance sur la toxicité des plantes utilisées (**Zeggwagh et al., 2013**). Au niveau national l'intoxication par les plantes médicinales représente 5,1 % de la totalité des intoxications enregistrées en dehors des piqures des serpents et scorpions (**Rhalem et al., 2010**). Le chardon à glu ou *Atractulis gummifera* est une espèce de plantes responsable de plus que 10,1 % des intoxications (**Zeggwagh et al., 2013**). La majorité des intoxications induites par la consommation des produits d'origines végétales sont liées soit à une erreur d'identification, à une contamination par d'autres plantes ou microorganismes, ou par des métaux lourds, le non-respect de la dose prescrit par l'herboriste, le mélange entre les médicaments et les recettes à bases des plantes (**Kool et al., 2012 ; Ouarghidi et al., 2013**). Des études expérimentales ont montré que certaines de ces plantes sont toxiques, parmi elles nous citons : *Chenopodium ambrosioides* L (**Derraji et al., 2014**) ; *Citrillus colocynthis* L (**Shaikh et al., 2016**) ; *Datura stramonium* L (**Schmitt et al., 2012**) et *Nerium oleander* L (**Alyahya et al., 2000**).

L'analyse quantitative des données collectées a montré que les deux espèces *Zygophyllum gaetulum* et *Nigella sativa* étaient les plus couramment utilisées avec des valeurs d'usage élevées. La valeur d'usage familiale VuF la plus élevée a été enregistrée pour la famille des Ranunculacées. Sous l'influence de la tradition et la religion, l'usage des graines de nigelles à une place importante dans le monde islamique. La majorité des participants dans cette enquête pensent que les graines de nigelles peuvent être utilisées pour guérir toutes sortes de maladies.

Le niveau de fidélité (NF) est un indicateur utile pour identifier l'espèce la plus utilisée par l'informateur pour le traitement de différents troubles. Les valeurs de NFs les plus élevées sont attribuées aux espèces suivantes : *Chenopodium ambrosioides* L, *Ammadaucus leucotrichus*, *Herniaria cinerea* DC, *Opuntia ficus*, *Phoenix dactylifera*, *Zea mays*, *Homolothecium aureum*, *Herniaria cinerea* et *Acacia raddianna*.

6. Conclusion

Cette étude avait pour objectif de recenser les différentes espèces de PMs utilisées dans le traitement de la douleur, l'inflammation, le diabète et la lithiase urinaire ainsi que les espèces connues pour ces effets hallucinogènes. D'après nos résultats, la prévalence de l'utilisation des PMs par la population de Zagora était de 85% pour le traitement des douleurs, 74% pour le traitement des calculs rénaux et 69% pour traiter le diabète. Au terme de cette enquête, nous avons recensé 83 espèces de plantes et 40 familles botaniques, la majorité de ces espèces appartiennent à la famille des lamiacées. L'enquête a révélé que le feuillage est la partie la plus utilisée dans la préparation des remèdes (33%) et la décoction constitue la méthode la plus utilisée dans la préparation des recettes à bases de plantes (39%).

Cette étude a permis de relever 50 espèces utilisées dans le traitement de la douleur et nous avons noté que *Zygophyllum gaetulum* est l'espèce la plus citée pour soulager les douleurs abdominales (UV=0,44). Le traitement du diabète constitue la deuxième cause d'utilisation des PMs, 45 espèces ont été inventoriées et *Nigella sativa* L est l'espèce antidiabétique la plus citée (UV= 0,36). Nous avons recensé aussi 19 espèces possédant une activité Antiurolithiasique, la gomme d'*Acacia tortilis* L est la plante la plus utilisée contre les calculs rénaux (UV=0,12). Sept espèces ont été répertoriées comme ayant une activité antiinflammatoire et *Lawsonia inermis* est l'espèce la plus utilisée (UV= 0,30). Pour les plantes ayant une activité hallucinogène nous avons recensé trois espèce, *Hyoscyamus muticus* est la plus citée (UV= 0,09). Parmi les participants qui ont utilisés des PMs seulement 14,64% avaient des informations sur la toxicité et 12 plantes ont été déclarées comme des plantes potentiellement toxiques.

Notre étude indique d'une part l'attachement de la population locale au patrimoine traditionnel, principalement dans les zones rurales, et d'autre part la richesse écologique en certaines espèces de plantes majoritairement spontanées. Toutes ces informations constituaient une ébauche importante pour initier des recherches expérimentales dans le but de valoriser et de conserver cette richesse traditionnelle. Afin achever ces objectifs, des liens doivent être créés entre les résultats ethnopharmacologiques et les résultats expérimentaux dans le but de mettre en place de projets de recherche pour la valorisation et développement de la phytothérapie locale. De ce point de vue, des études phytochimiques, toxicologiques et neuropharmacologiques deviennent nécessaire afin d'explorer la composition chimique, d'évaluer la toxicité et de vérifier

l'efficacité des produits de la phytothérapie utilisés par la communauté de Zagora. Cela fournirait aux scientifiques de nouvelles molécules possédant une valeur inestimable qui pouvant servir de points de départ pour développer de nouveaux médicaments. Malgré ces effets encourageants des plantes, l'utilisation anarchique des PMs présente un risque d'intoxication, pour cette raison la pratique de la phytothérapie doit être obéir à des règles d'utilisation strictes auxquelles seuls les spécialistes en phytothérapie peuvent intervenir.

Dans le cadre de tester et de valider l'utilisation traditionnelle de certaines espèces recensées dans cette région. Nous avons constaté que la valeur d'usage la plus élevée a été enregistré pour l'espèce *Zygophyllum gaetulum*. Les études expérimentales préliminaires ont montré que l'espèce *Hyoscyamus muticus* était plus efficace que les autres espèces sélectionnées c'est pour cela nous avons focalisé dans l'étude expérimentale sur les activités biologiques et neuropharmacologiques de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus*. Nous avons fixé l'objectif d'élargir l'étude expérimentale a *Zygophyllum gaetulum* et d'autres espèces selon le classement d'ordre de citation obtenu dans l'étude ethnopharmacologique.

Deuxième Partie

**Étude phytochimique et l'activité
antioxydante de l'extrait méthanolique de
*Hyoscyamus muticus***

Deuxième partie : Étude phytochimique et activité antioxydante

Chapitre 1 : Généralités

1. Données générales sur *Hyoscyamus muticus*

1.1 Description botanique de l'espèce *Hyoscyamus muticus*

Hyoscyamus muticus est une plante herbacée d'environ 60 cm de hauteur, vivace, robuste, de tige épaisse, richement ramifiée à partir du cou. Les feuilles sont succulentes, alternes, pétiolées longuement en bas, sessiles en haut avec un apex aigu et un angle d'inclinaison ou de la marge à lobes dentés (Figure 14 A) (Evans, 2002). Les feuilles sont de couleur vert pâle ; elles sont cassantes, charnues et d'environ 15 cm de long. L'inflorescence dans l'épi unilatéral ou l'épi racémique avec des fleurs denses. Les fleurs bisexuelles, homogènes, légèrement zygomorphes, sont serrées aux extrémités des tiges, d'environ 3 à 4 cm de long, d'un calice cylindrique campanulé, avec des côtés longitudinaux et cinq dents triangulaires. La corolle en forme d'entonnoir, de coloration violette avec des stries jaunâtres et cinq lobes inégaux (Figure 14 B). Les étamines de cette espèce sont de type épipétales composées de filaments violets poilus avec des anthères jaunes oblongues. Cette espèce est caractérisée par des fruits relativement petits, entourés par un calice persistant, de formes cylindrique et biloculaire, et d'environ 1,5 cm de long et 6 mm de large (Figure 14 C). La graine possède un diamètre d'environ 1 mm, avec un embryon enroulé et noyé dans un endosperme huileux (Nassar et al., 2016). Le tableau VI représente la classification systématique de cette plante.

Tableau VI : Taxonomie de l'espèce *Hyoscyamus muticus* L.

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Infra-règne	Streptophyta
Super division	Embryophyte
Division	Trachéophyte
Sous-division	Spermatophyte
Classe	Magnoliopsida
Superordre	Asteranae
Ordre	Solanales
Famille	Solanacée
Genre	Hyoscyamus
Espèce	<i>Hyoscyamus muticus</i>



Figure 14 : Photos de *Hyoscyamus muticus* L, **A** : la partie aérienne de la plante ; **B** : photo de la fleur ; **C** : calices fructifères ; **D** : graines.

1.2 Répartition géographique de *Hyoscyamus muticus*

La famille des solanacées inclut environ 85 genres et 2800 espèces ; le genre *Hyoscyamus* est l'un des 21 genres ; il contient de puissants tropanes alcaloïdes. Le genre *Hyoscyamus* comprend environ 20 espèces réparties en Afrique du Nord, en Europe occidentale, l'Asie centrale et sud-est de l'Asie (Feinbrun-Dothan, 1978 ; Boulos, 2002). *Hyoscyamus muticus* est une espèce largement répartie dans les zones arides et sahariennes du Maroc, d'Algérie et des déserts du moyen orient. Localement reconnue sous le nom vernaculaire « Elbtima » dans les régions sud-est du Maroc et sous le nom « Sekran » dans le sud-ouest d'Algérie. Dans la langue française, cette plante est nommée « jusquiame d'Égypte » ou « égyptien henbane » en anglais (El-Shazly et al., 1997).

1.3 Histoire de l'utilisation traditionnelle de *Hyoscyamus muticus*

Historiquement, le nom *Hyoscyamus* est premièrement annoncé par le pharmacologue grec « **Pedanius Dioscoride** », longtemps avant l'ère chrétienne, cette plante était connue comme toxique pour l'homme et de nombreux animaux, mais elle ne cause aucun préjudice pour les porcs après son ingestion. Le nom *Hyoscyamus* est composé de deux mots grecs : le mot « hyos » qui signifie « porc » et le mot « kyamus » signifiant un « haricot ». L'encyclopédiste « **Pline** » l'ancien est le premier qui a décrit les effets de *Hyoscyamus* sur la dilatation des pupilles. Les Grecs et les Romains connaissaient cette plante comme un remède contre la douleur (**Grégoire, 2009**). Au 10^e siècle, cette plante a été enregistrée sous le nom de jusquiame et à partir de 1809 l'extrait de cette plante était recommandé pour le traitement de l'épilepsie et d'autres maladies nerveuses convulsives. Des descriptions des effets de l'ingestion volontaire ou accidentelle des feuilles de cette plante indiquaient la présence des effets hallucinogènes et divagateurs. Cette espèce faisait partie des plantes composant une éponge soporifique qui permette la réduction de la sensation douloureuse au cours des interventions chirurgicales.

Actuellement, *Hyoscyamus muticus* est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour soulager les spasmes douloureux des voies digestives et urinaires (**Hammiche, 2006**). Elle est aussi utilisée contre les inflammations oculaires et gastro-intestinales, les ulcères gastriques, la constipation, les blessures cutanées, l'asthme, l'anxiété et aussi pour ses propriétés sédatives (**Hammiche, 2006 ; Abouri et al., 2012 ; Hammiche, 2013**). La fumée des graines brûlée est inhalée pour traiter les maux de dents et soulager l'asthme (**Al-said et al., 1993**).

1.4 Métabolites secondaires identifiées dans de la plante

Les études phytochimiques précédemment réalisées indiquent que les alcaloïdes et les composés phénoliques constituent les principaux métabolites présents dans l'extrait méthanolique de *H. muticus* (**Elsharkawy et al., 2018**). Des études phytochimiques antérieures, élaborées par la technique d'HPLC et GLC-spectrométrie de masse, révèlent une richesse en alcaloïdes tropaniques, principalement la hyoscyamine, la scopolamine, homatropine et d'autres composants comme la norhygine, l'hygine, 6S-hydroxy hyoscyamine, apoatropine, norhyoscyamine, 3-alpha-Phenylacetyltropane et la cuscohygrine (Figure 15) (**EL-Shazly et al., 1997 ; Dawidar et al., 2009**).

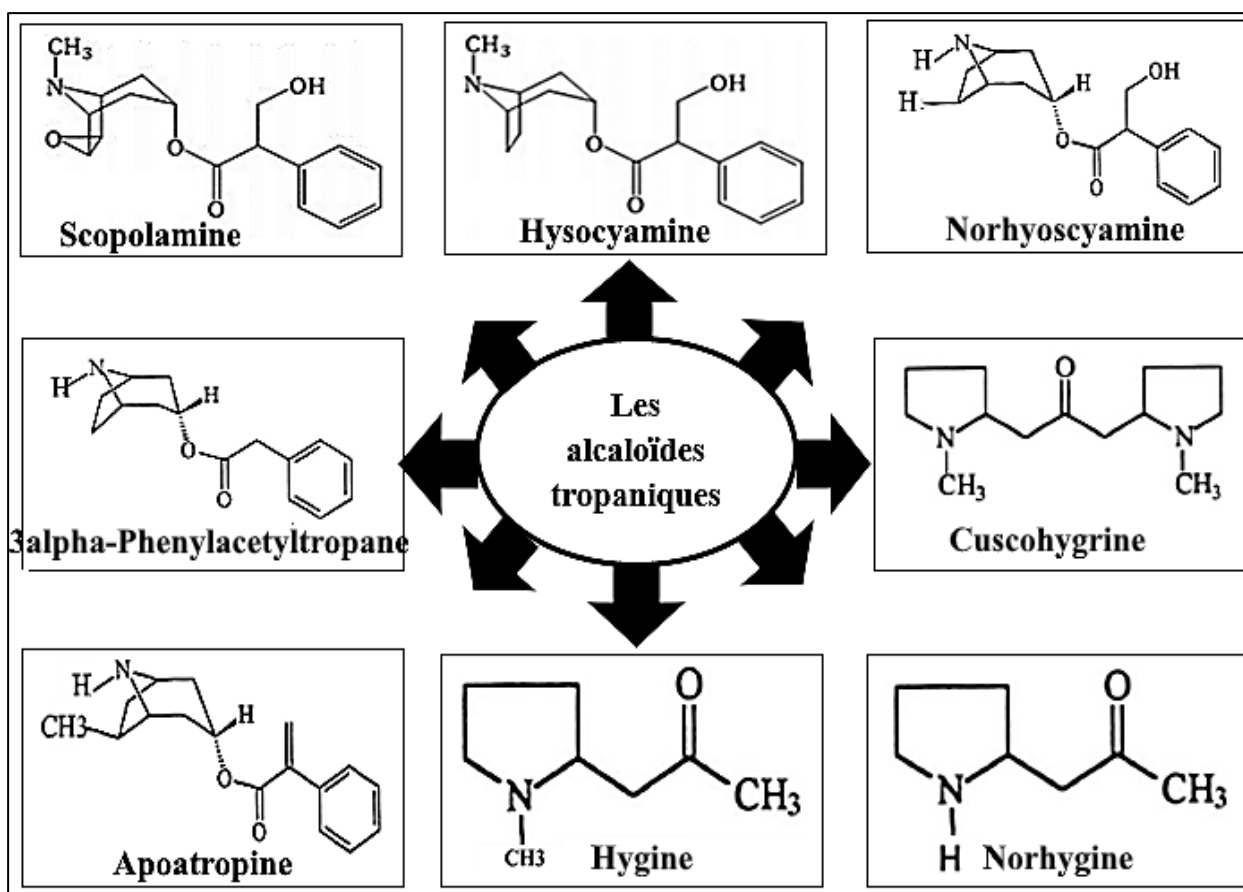


Figure 15 : Les structures d'alcaloïdes tropaniques présentes dans la plante *Hyoscyamus muticus* (Al-Shazly et al., 1997).

L'analyse des parties aériennes de cette plante par la technique GC-MS, indique la présence des concentrations élevées de composés phénoliques notamment l'acide férulique, l'acide cinnamique, l'acide quinique, le phénol-o-méthoxy, le phénol-2-2-méthylènebis, l'ester d'acide 4-hydroxy-cinamique, le méthyl-silate, p-cresol-2-2-méthylènebis et le méthylferulate (Figure 16) (Al-Shazly et al., 1997).

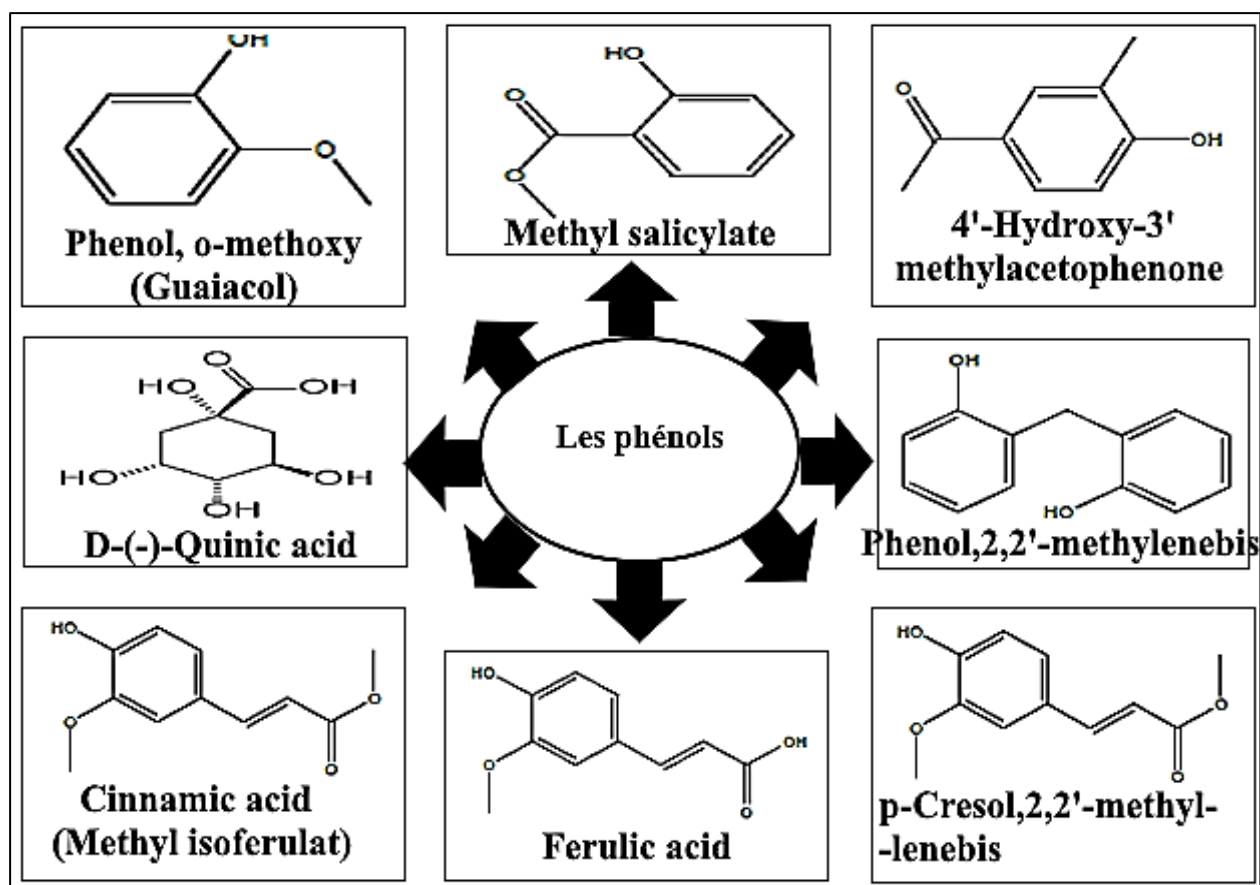


Figure 16 : Les différents types des phénols présents dans l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* (Elsharkawy et al., 2018).

2. Généralités sur l'activité antioxydante

2.1 Les espèces réactives de l'oxygène (EROs) ou ROS

Les espèces réactives de l'oxygène sont des dérivés de l'oxygène qui possédant des électrons qui se trouvent dans un état énergétique excité. Certains de ces dérivés hautement réactifs portent un électron non apparié sur la couche électronique supérieure nommées les radicaux libres. A l'état physiologique, la production des EROs est essentiellement d'origine mitochondriale, environ de 95% des EROs produites au niveau cellulaire. La majorité des EROs d'origine mitochondriale est issues de l'action des enzymes de la chaîne respiratoire et la NADPH oxydase (Beaudeau et al., 2006). Parmi les EROs formées chez les êtres vivants on distingue : OH \cdot , O₂ \cdot , \cdot NO, ROOH, H₂O₂, ¹O₂, O₃, OCL⁻ et ONOO (Figure 17).

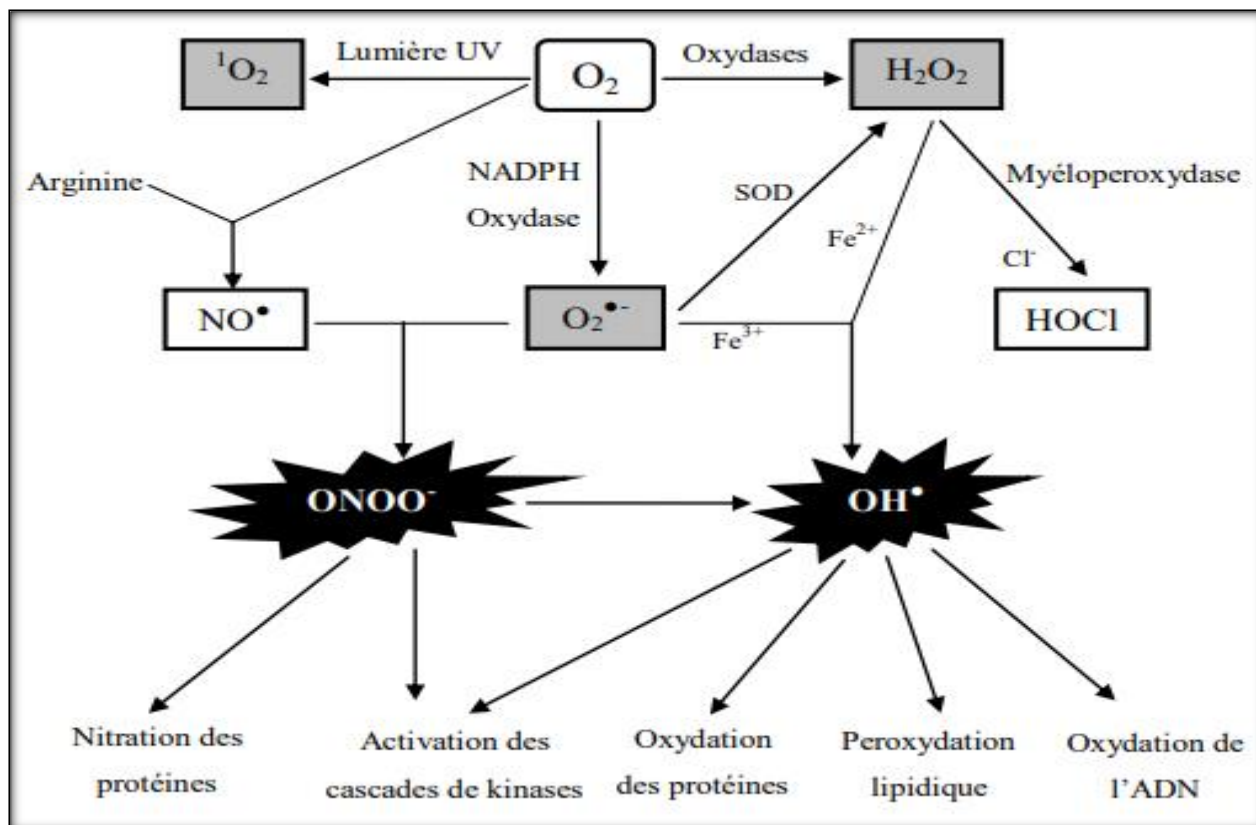


Figure 17 : Origine des différents types des espèces réactives d'oxygène et d'azote (Favier,2003)

Le radical hydroxyle est parmi les espèces radicalaires très réactives ; il peut attaquer et dénaturer les macromolécules de l'organisme notamment l'ADN, les protéines et les lipides (Dizdaroglu et al., 2002). Dans le cas de l'ADN, il s'agit de modification des sucres, des bases azotées, de ruptures de brins et de liaisons ADN- protéines (Dizdaroglu et al., 2002). Les EROs attaquent la molécule d'ADN au niveau des bases azotées qui sont sensibles à l'oxydation. Par exemple le radical OH attaque les doubles liaisons de ces bases en C5 ou C8 et les oxyde. L'oxydation des bases azotées de l'ADN interfère avec les processus de la réplication et peut mener à l'apparition des mutations qui altèrent la machinerie cellulaire. De même, les radicaux libres peuvent agresser les composants cellulaires et matriciels du corps ce qui provoque des pathologies graves (Afonso et al., 2007).

Par ailleurs, les EROs sont utilisées par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions cellulaires comme la prolifération cellulaire et la régulation de l'apoptose. Elles sont également impliquées dans les voies de signalisations intracellulaires et dans la modulation des

facteurs de transcription et de l'expression génique (Afonso et al., 2007). Le taux des ERO dans la cellule est déterminé par l'équilibre entre le taux de synthèse et leur taux d'élimination par divers stratégies moléculaires et enzymatiques. Généralement, à faible concentration les ERO jouent de rôle des seconds messagers, Cependant, à la concentration élevée, leurs effets deviennent néfastes pour les cellules, les tissus et diverses fonctions physiologiques. En effet, notre organisme possède divers mécanismes de défenses contre les EROs en particulier des enzymes dites antioxydantes notamment l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) qui catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, la catalase (CAT) et la glutathionne peroxydase qui permet la conversion du H₂O₂ en eau (Afonso et al., 2007).

2.2 Les antioxydants naturels

2.2.1 Définition

Un antioxydant est un agent responsable de la neutralisation des radicaux libres par ralentissement ou atténuation de l'oxydation. Les antioxydants (AOX) neutralisent les espèces réactives en leur transférant un électron, chélatant des ions métalliques qui initieraient la réaction d'oxydation (Masuoka et al., 2012). Les AOX interviennent dans les réactions redox et maintiennent ainsi un statut redox stable favorable pour de nombreuses enzymes et cellules. Ces molécules participent dans la modulation de diverses enzymes (Masuoka et al., 2012).

2.2.2 Classification des antioxydants naturels

Plusieurs molécules d'origine naturelle, endogènes et exogènes, possèdent un effet antioxydant. On y compte les protéines, les peptides, les vitamines (Vitamine E, C et D), les acides aminés (par exemple L-histidine), les polyphénols, les caroténoïdes et des composés inorganiques. Les AOX naturels sont classés en deux types : les antioxydants primaires et les antioxydants secondaires.

2.2.2.1 Les AOX primaires

Constitués d'un ensemble d'enzymes naturellement présentes dans l'organisme et dans le sang. Ces enzymes participent dans la neutralisation des radicaux libres. Il s'agit principalement

de l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), de la glutathion peroxydase, des catalases et des protéines de transport notamment la ferritine et la céruloplasmine.

2.2.2.2 Les AOX secondaires

Appelés aussi les antioxydants préventifs, ils sont apportés par l'alimentation. Agissent principalement sur les facteurs favorisant l'oxydation. On distingue par eux :

2.2.2.2.1 Les Tocophérols

Ils regroupent quatre substances dont l'alpha-tocophérol (vitamine E). Ces composés sont de nature liposoluble différenciés par les substituants du noyau chromanol (Figure 18). La vitamine E est l'antioxydant majeur de cette famille et elle est très active biologiquement. Elle agit par l'interruption de la phase de propagation radicalaire des acides gras insaturés des membranes des cellules et sur le métabolisme de l'acide arachidonique par l'inhibition de la production de PGE2. De la même manière, les tocophérols sont capables d'inhiber les oxydations induites par l'oxygène singulet, les radicaux peroxy, alkyle et alcoyle (Azzi, 2007).

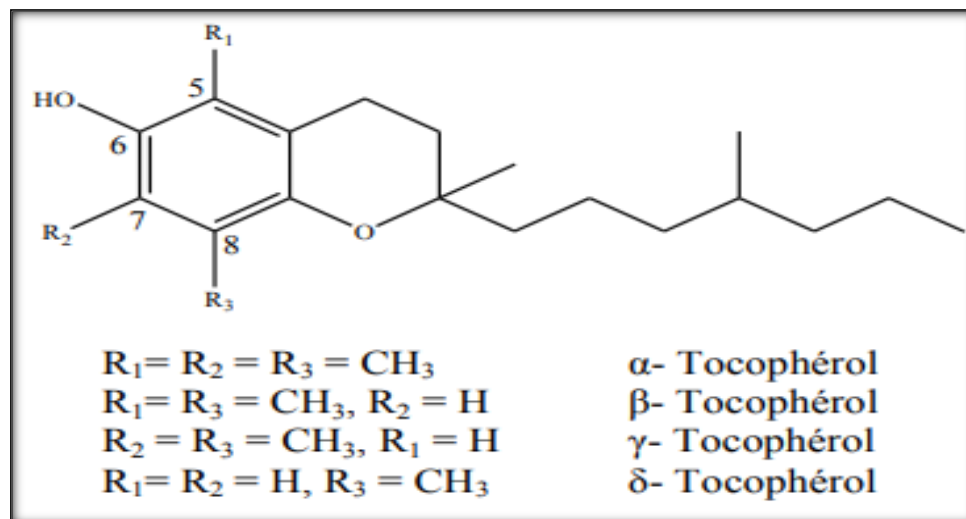


Figure 18 : Structures des tocophérols.

2.2.2.2.2 L'acide ascorbique ou la vitamine C

La vitamine C est le plus fort antioxydant hydrosoluble. Il intervient dans les réactions d'oxydoréduction entre la forme réduite 'l'acide ascorbique' et la forme oxydée 'déhydroascorbate' (Figure 19). L'ascorbate capte les anions superoxydes, hydroxyle, les radicaux peroxydes et l'oxygène singulet pour protéger les membranes vis-à-vis de l'attaque peroxydative (Pehlivan, 2017 ; Vissers et Das, 2018).

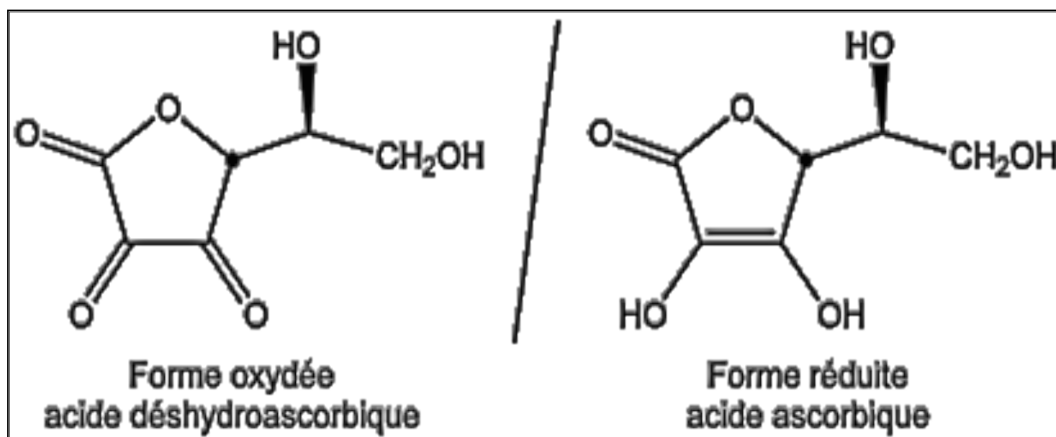


Figure 19 : Les deux formes de l'acide ascorbique (la vitamine C)

2.2.2.2.3 Les polyphénols

Constituent une famille de métabolites secondaires hydrosolubles largement présentés dans le règne végétal. Ils sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques, c'est-à-dire un noyau aromatique sur lequel sont présents un ou plusieurs groupements OH (Leopoldini, 2011). La figure 20 illustre les différentes formes des polyphénols identifiées chez les plantes.

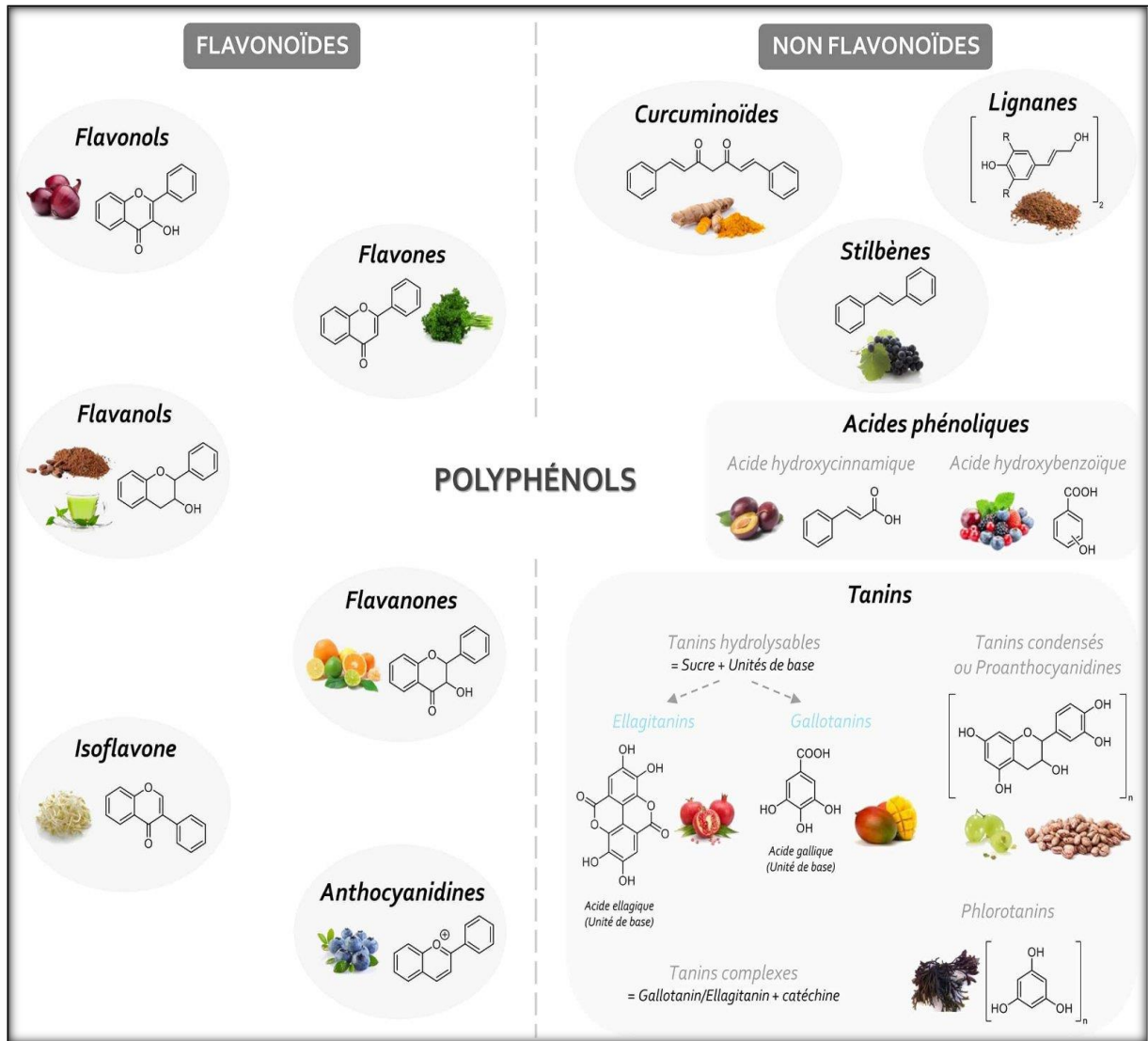
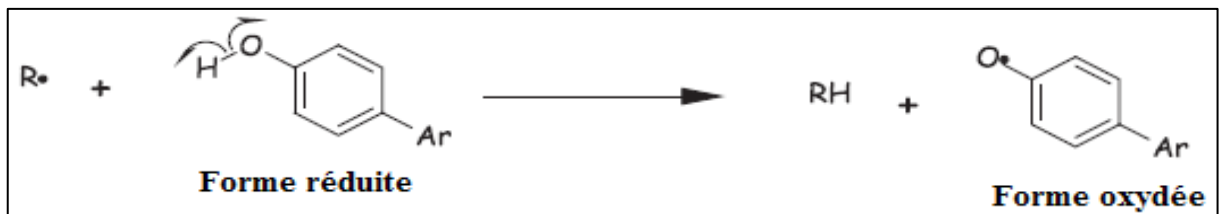


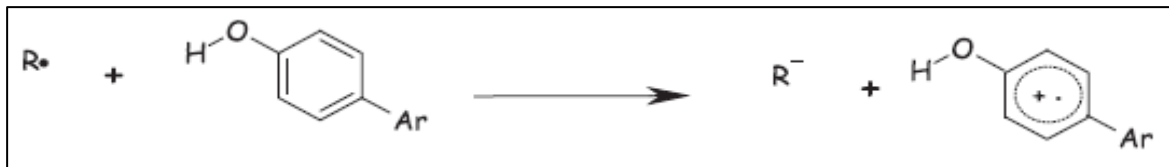
Figure 20 : Classification simplifiée des polyphénols

Les polyphénols possèdent une importante activité antioxydante, ils désactivent les radicaux libres via différents mécanismes (**Leopoldini, 2011**) :

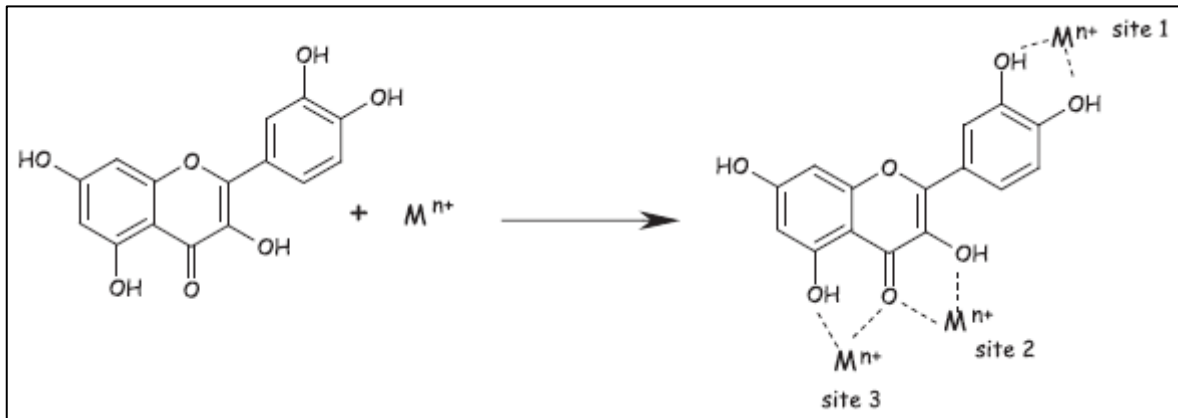
- Le transfert d'atome d'hydrogène sur le radical libre par la rupture de la liaison OH selon la réaction suivante :



- Le transfert d'un électron sur le radical libre selon la réaction :



➤ La chélation des métaux de transition selon la réaction qui suit



2.2.2.2.4 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe de composés phénolique avec environ 6000 composés naturels. Le terme flavonoïdes est dérivé du mot « Flavus » qui signifie jaune, ils sont responsables de la coloration de différents organes des végétaux (**Prochazkova et al., 2011**). Les flavonoïdes sont composés de 15 carbones constitués par un squelette commun de phényl-benzo- γ -pyrane composé de deux cycles phényles (A et B) et d'un cycle hétérocyclique C (voir la figure 21).

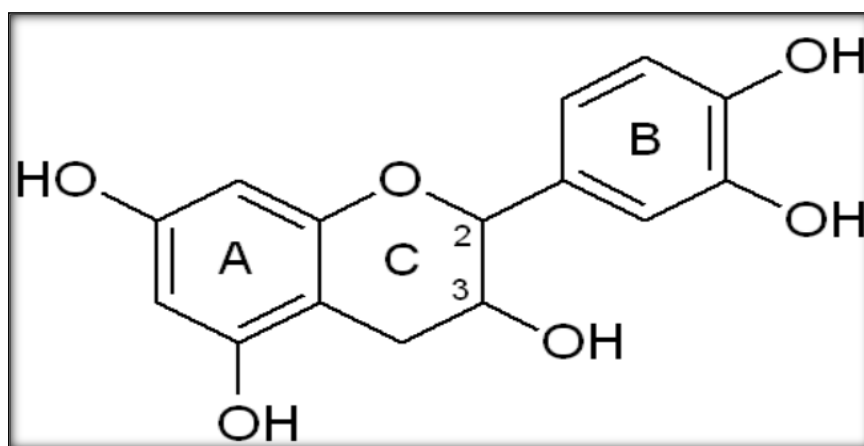


Figure 21 : Structure de base des flavonoïdes (**Coste, 2015**).

La famille des flavonoïdes contient les flavonols, les flavones, les flavonoïdes, les flavanones, les anthocyanidines et les isoflavones. Ces composés peuvent agir de différentes façons dans la régulation du stress oxydant : par une action directe sur les espèces réactives de l'oxygène, par la chélation des métaux, et par l'inhibition des enzymes responsables de la libération des EROs comme la xanthine oxydase (**Lahouel et al., 2006**).

Chapitre 2 : Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait de *Hyoscyamus muticus*

1. Introduction

La chimie végétale ou la phytochimie ne cesse de se développer dans ces dernières années. Cette discipline distincte constitue une interface de la chimie organique analytique et de la biochimie appliquée. Elle s'intéresse à l'étude de la structure des substances issues des plantes ainsi qu'à leur méthode d'extraction et purification. La caractérisation et l'identification des substances naturelles d'origine végétale nécessite le recours à des techniques chromatographiques et biochimiques dont le choix dépend de la nature des composés à séparer (Stalikas, 2007).

Les plantes médicinales contiennent plusieurs métabolites parmi eux des métabolites dits secondaires qui jouaient des rôles primordiaux dans la protection de la plante contre les agressions des agents pathogènes et dans l'élaboration des relations entre les plantes et leur environnement (Kessler, 2018).

Les métabolites secondaires des végétaux sont classés généralement en plusieurs groupes, dont les plus importants sont les polyphénols, les alcaloïdes ainsi que les terpénoïdes (Raghuveer et al., 2015). Les produits d'origine végétale constituaient une source de grandes quantités des métabolites tels que les polyphénols et les anthocyanes qui peuvent jouer un rôle important dans l'adsorption et la neutralisation des radicaux libres responsables de plusieurs maladies (Pandey et al., 2009). Les polyphénols constituent une famille des composés organiques ayant des propriétés antioxydantes et biologiques bénéfiques pour la santé humaine (Cory et al., 2018). Dans ce travail nous nous concentrerons sur la plante *Hyoscyamus muticus*, une espèce endémique du Sahara, caractérisée par une adaptation optimale aux conditions extrêmes de sécheresse, cette adaptation au climat sec est due à la présence de plusieurs métabolites et développement des stratégies (Abdel-Motaal., 2010). Ces composés synthétisés peuvent être indispensables contre le stress oxydant mais également efficace contre des pathologies affectant la santé humaine (Schreiner et al., 2014). Des études antérieures indiquent que l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* est très riche en composés phénoliques notamment l'acide caféique et l'acide férulique qui peuvent jouer des rôles primordiaux dans la protection contre le stress oxydant.

Dans cette partie nous allons étudier la phytochimie de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* (MEHM) en utilisant la technique d'HPLC et des méthodes colorimétriques pour quantifier les polyphénols totaux, les flavonoïdes et les tannins. Dans un deuxième temps nous évaluerons l'activité antioxydante de l'extrait en utilisant la technique de DPPH et le pouvoir réducteur afin d'évaluer le pouvoir antiradicalaire de l'extrait.

2. Matériel et méthodes

2.1 Préparation du matériel végétal

Les feuilles de *Hyoscyamus muticus* ont été récoltées pendant le mois d'avril 2015 dans le sud de la province de Zagora, 29°58'24.132"N/5°32'26.627"W. Après la récupération de la plante, les feuilles ont été bien nettoyées des impuretés, puis séchées naturellement à l'abri de la lumière dans des conditions de température ambiante (25°C). Le matériel végétal séché a été broyé dans un moulin électrique en une poudre fine puis conservé à l'abri de lumière. Une quantité de 50 g de la poudre a été utilisée pour l'extraction par le méthanol (1 : 5 ; p/v) à l'aide de Soxhlet. L'extrait obtenu a été évaporé à sec sous pression réduite à 52 °C grâce un évaporateur rotatif afin d'enlever le solvant et d'obtenir la masse solide (figure 28). Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R = \frac{M}{M_i} \times 100$$

R : rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec obtenu

M_i : Masse en gramme du matériel végétal utilisée

Les doses utilisées dans cette étude ont été préparées en mettant en suspension des quantités appropriées d'extrait dans le volume approprié contenant 10 % de DMSO, les volumes administrés aux animaux se situant entre 0,20 ml et 0,30 ml.

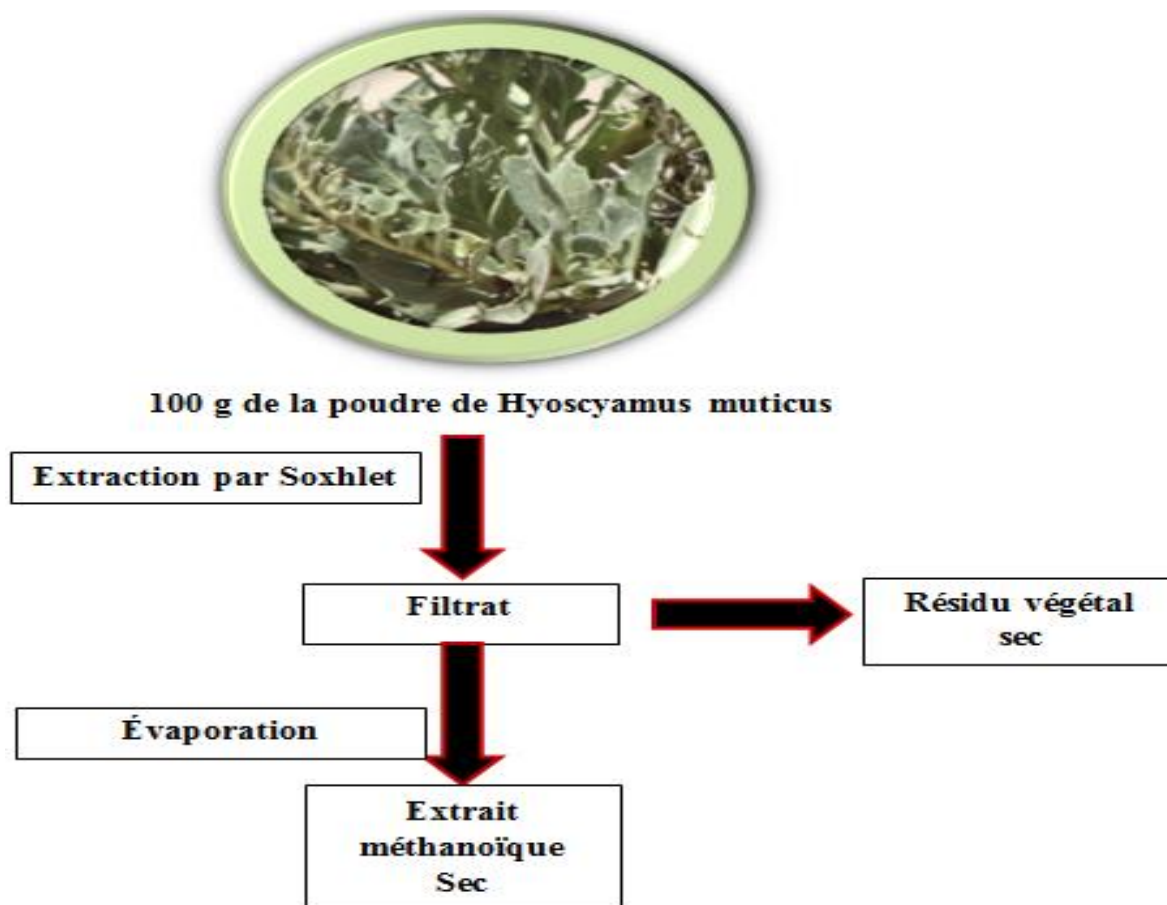


Figure 22 : Schéma simplifié des étapes de préparation de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus*.

2.2 Dosage des composés phénoliques totaux par la colorimétrie

2.2.1 Principe de la méthode

La qualification des composés phénoliques totaux présentés dans l'extrait a été réalisée en utilisant la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu (FC) telle que décrite par **Singleton et coll. (1999)**. Cette méthode simple était basée sur la réduction chimique du réactif Folin-Ciocalteu. Cet acide de couleur jaune est formé par un mélange de deux acides : l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ces derniers réduisent le réactif de (FC) en un complexe ayant une couleur bleue (composé d'oxyde de tungstène W_8O_{23} et de molybdène MO_8O_3). La coloration

produite a été qualifiée par la mesure de l'absorbance avec un maximum à 760, l'intensité de cette coloration est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'extrait.

2.2.2 Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé selon le protocole expérimental suivant : 20 µl de l'extrait végétal ont été mélangés avec 100 µl de réactif Folin-Ciocalteu (FC) et 1,16 ml d'eau distillée, puis 300 µl (75 g/l) de carbonate de sodium (Na_2CO_3) ont été ajoutés (Figure 23). Le mélange a été incubé à l'obscurité sous une température de 40 °C pendant 30 minutes. L'intensité de la coloration de la solution obtenue a été mesurée à 760 nm grâce à un spectrophotomètre UV-VIS.

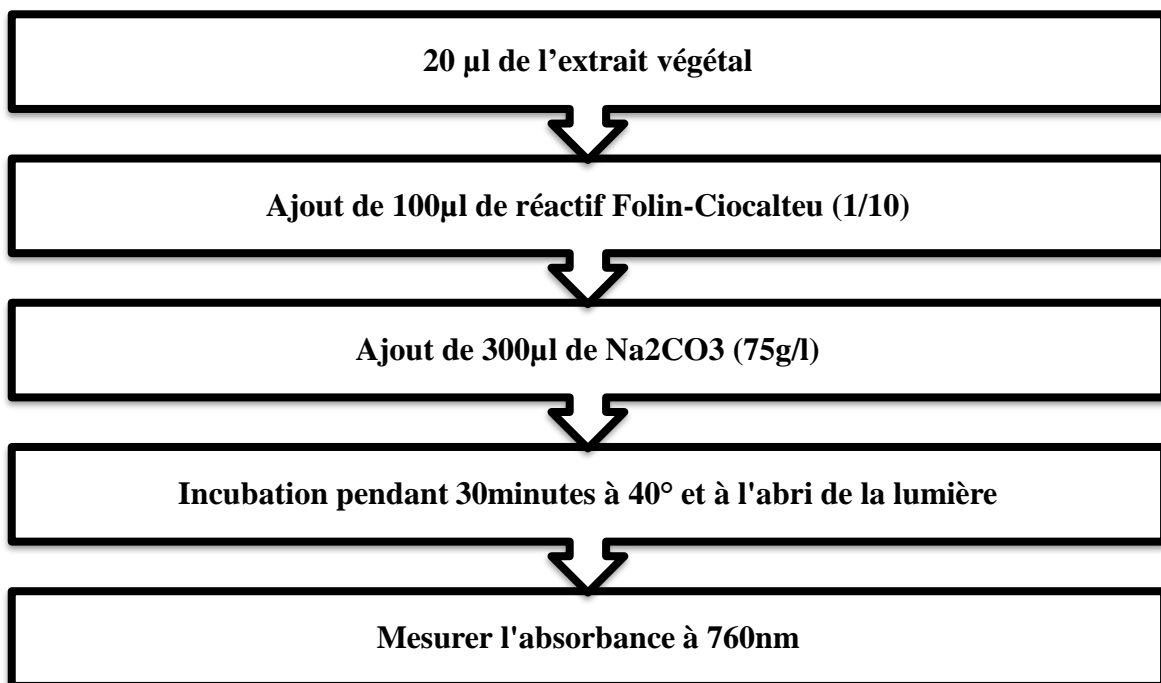


Figure 23 : Différentes étapes du dosage des polyphénols totaux par la méthode Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999).

2.2.3 Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique

L'acide gallique, un polyphénol, est utilisé pour la réalisation de la courbe d'étalonnage. Différentes concentrations (0,25-200 µg/ml) de l'acide gallique ont été préparées en suivant les mêmes étapes du dosage réalisé pour l'extrait de la plante. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage en poids d'équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait (EAG/g DM).

2.3 Dosage des flavonoïdes par la méthode de trichlorure d'aluminium

2.3.1 Principe de la méthode

L'estimation de la teneur des flavonoïdes dans l'extrait de *H. muticus* a été effectuée par utilisation du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) suivant le Protocole décrit par **Singleton et coll. (1999)**. Les flavonoïdes réagissent avec l' AlCl_3 pour former un chromophore mesurable à 420 nm. Le principe de cette méthode, à savoir l'addition d' AlCl_3 qui formera un complexe acide stable avec les groupes cétoniques C-4, ainsi que dans les groupes hydroxyles C-3 ou C-5 des flavones et des flavonoïdes (Figure 24). L' AlCl_3 forme également des complexes acides stables avec le groupe orthodihydroxyle dans le cycle A ou B ; les composés flavonoïdes ont une absorption maximale avec une longueur d'onde de 432 nm.

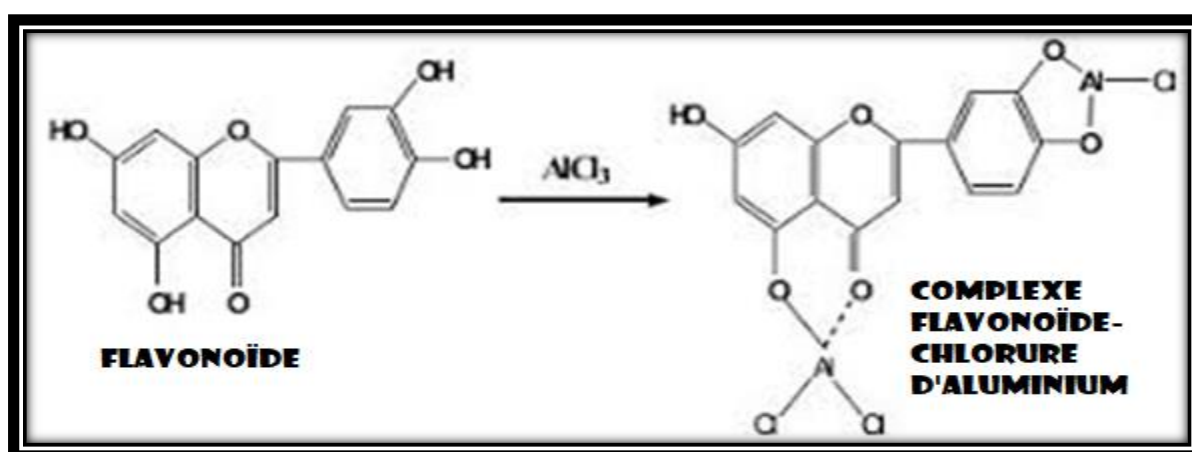


Figure 24 : Réaction de formation du complexe flavonoïde-chlorure d'aluminium (AlCl_3) (Chang et al., 2002).

2.3.2 Mode opératoire

Brièvement, un volume de 0,5 ml de solution d' AlCl_3 à 2 % dans l'éthanol a été mélangé avec le même volume de l'extrait méthanolique (Figure 25). La réaction a été maintenue à une température ambiante ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) et dans l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 420 nm par rapport à un échantillon témoin (0,5 ml de la solution d'extrait ajouté à 0,5 ml).

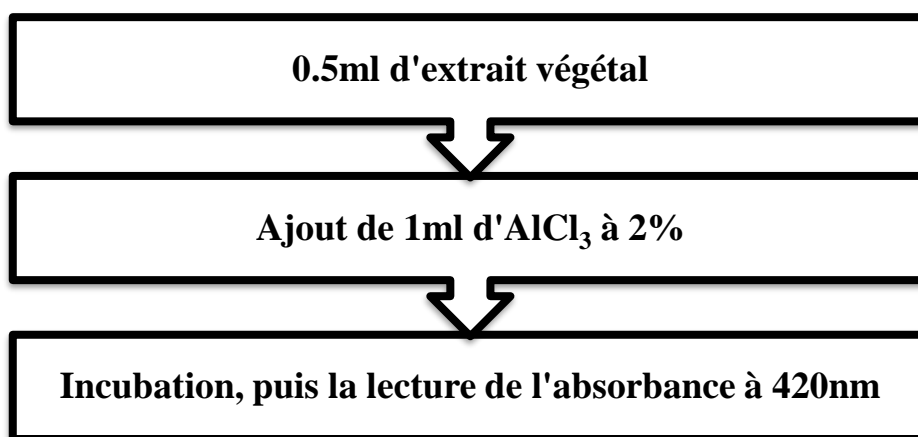


Figure 25 : Différentes étapes du dosage des flavonoïdes par l'utilisation d' AlCl_3 .

2.3.3 La gamme d'étalonnage de la catéchine

Une solution de catéchine entre 0 et 100 ml a été utilisée dans la préparation de la courbe d'étalonnage. Les résultats obtenus ont été exprimés en équivalent de catéchine par gramme de poids sec d'extrait (CAT/g DM).

2.4 Dosages des tanins par la vanilline

2.4.1 Principe

La détermination de la teneur en tanins condensés dans l'extrait a été estimée par la méthode colorimétrique. Le principe de ce dosage est fondé sur l'utilisation de la vanilline qui se fixe par le groupement aldéhydique sur le groupement flavonoïde terminal (le C6 cycle A de la catéchine) et la formation d'un complexe de coloration rouge qui absorbe à une longueur d'onde de 550nm (Figure 26) (Schofield et al., 2001).

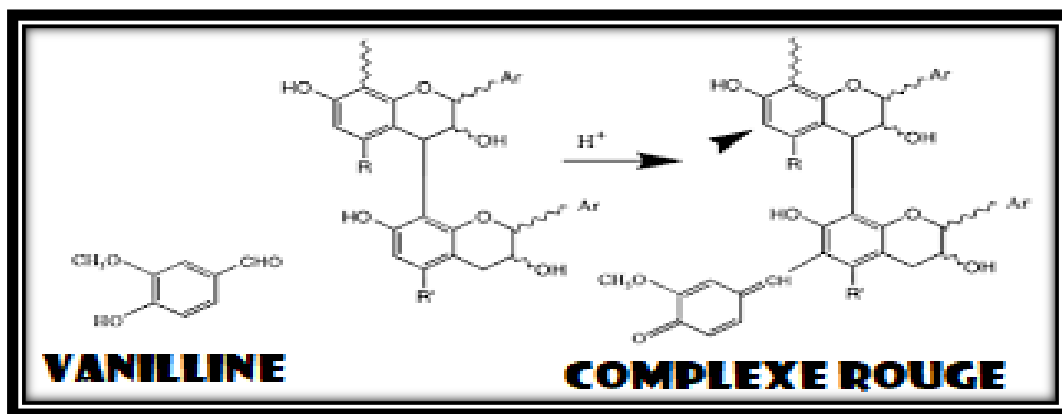


Figure 26 : Réaction de la vanilline avec les tanins condensés (Schofield et al., 2001).

2.4.2 Mode opératoire

Un volume de 100 μ l d'extrait méthanolique de *H. muticus* a été mélangé à 1 ml d'une solution de vanilline (4 % dans le méthanol), et 0,5 ml de solution de HCL. La solution obtenue a été placée pendant 10 minutes à température ambiante ($24 \pm 2^\circ\text{C}$), puis l'absorbance a été mesurée à 550 nm par un spectrophotomètre (Figure 27).

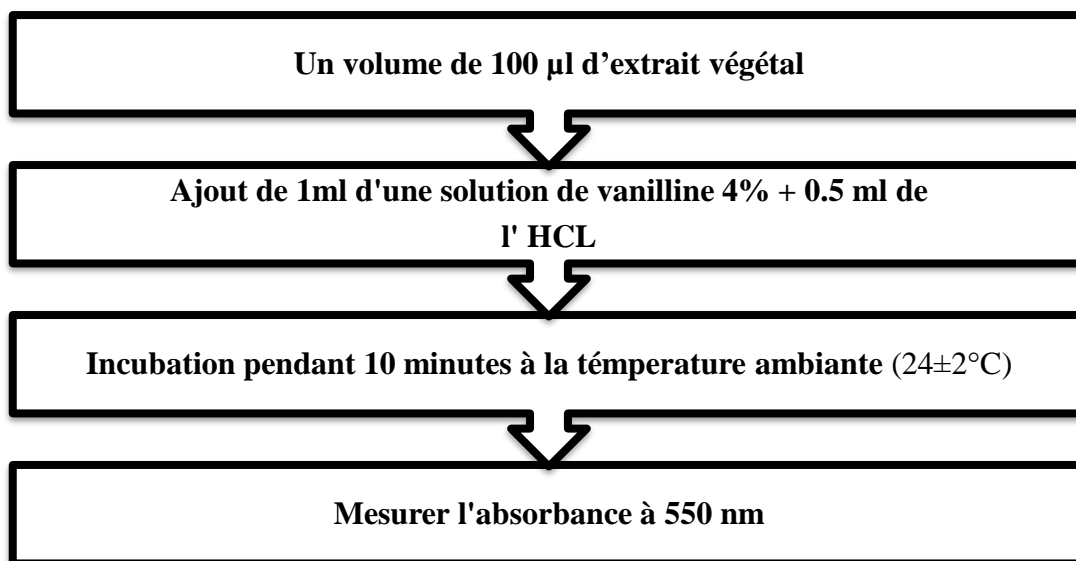


Figure 27 : Différentes étapes de dosage des tanins condensés par la vanilline (Schofield et al., 2001 ; Xue et Chang, 2007).

2.4.3 La gamme d'étalonnage de catéchine

Une courbe d'étalonnage a été élaborée avec différentes concentrations de la catéchine. Les données obtenues ont été calculées et exprimées en équivalents de catéchine (CAT/g DM).

2.5 Chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) ou HPLC

2.5.1 Principe de la technique

La chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) ou HPLC en anglais (High Performance Liquid Chromatography) est une technique d'analyse quantitative et qualitative qui permet la séparation, l'identification et le dosage de composés chimiques. L'échantillon à analyser est stimulé par un éluant liquide (la phase mobile) sous une pression d'environ 70 Bars dans une colonne remplie d'une phase stationnaire composée de grains solides très fins. Le débit d'éluant est assuré par une pompe à haute pression. Au niveau de la colonne, les diverses molécules de l'extrait sont séparées l'une de l'autre en raison de leurs diverses affinités à l'égard des deux phases. À la sortie de la colonne, les composés sont détectés à l'aide d'un détecteur UV (Figure 28).

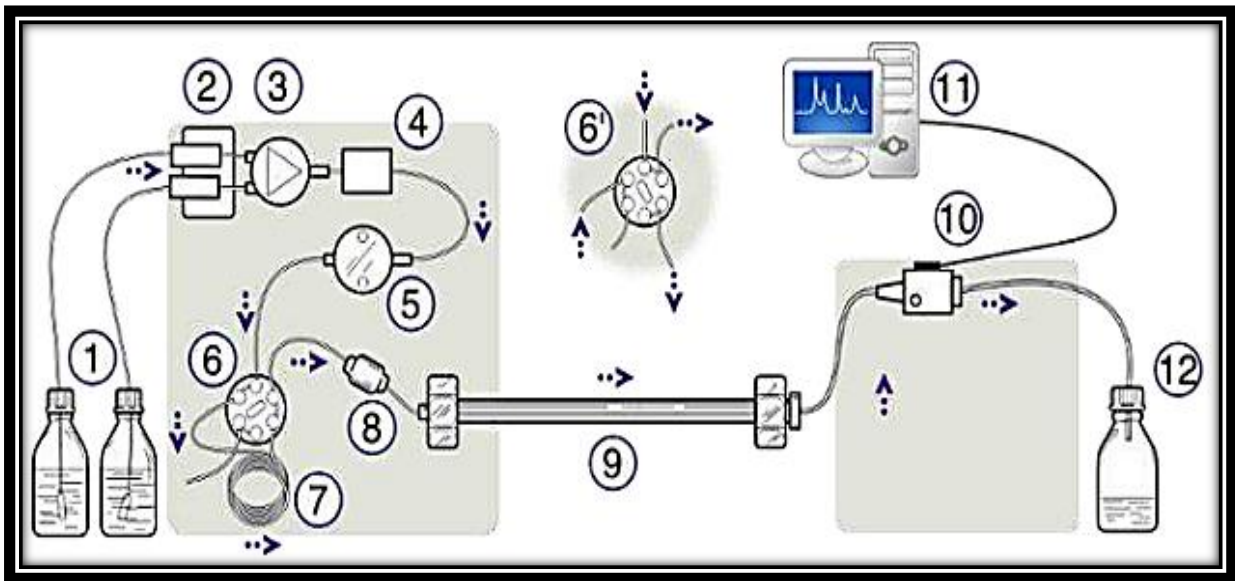


Figure 28 : Schéma général du fonctionnement de la chromatographie en phase liquide à haute performance.

- 1- Réservoirs des solvants.
- 2- Dégazeur.
- 3- Valve de gradient d'élution.
- 4- Doseur de phase mobile (Éluant).
- 5- Pompe à haute pression.
- 6- Vanne d'injection en position « inject et 6'- Vanne d'injection en position “load”.
- 7- Boucle d'injection de l'échantillon.
- 8- Pré-colonne.
- 9- Colonne analytique.
- 10- Détecteur.
- 11- Acquisition du signal.
- 12- Décharge déchets.

2.5.2 Mode opératoire

On effectue une analyse par HPLC pour étudier les principaux composés de métabolites secondaires dans l'extrait méthanolique de *H. muticus*. L'appareil utilisé dans la caractérisation des composés phénoliques de l'extrait est de marque “Knauer”; il est équipé d'une pompe (K 1001) et d'un détecteur à réseau de photodiodes (200-700 nm). Les séparations

chromatographiques ont été effectuées par une colonne en phase inverse (RP-18), “Agilent Technologies” (250 mm × 4,6 mm, 5,0 µm) protégée par une pré-colonne “Agilent technologies” RP-18 (10 mm × 4,6 mm). La température des deux colonnes a été maintenue stable à 25°C. Le système HPLC était composé d'un système de pompage de type “Shimadzu SCL-10A”, d'un injecteur automatique “SIL-10AD” et du détecteur UV/Vis (200-700nm) de type “Shimadzu SPD 10A”. L'analyse des données a été réalisée par le logiciel “SHIAMDZU Lab Solutions”. Deux solutions A et B ont été utilisées :

- La solution (A) était composée de 95% d'eau ultra-purifiée et de 5% d'acétonitrile.
- La solution (B) était un tampon de phosphate dissous dans de l'eau avec un PH = 2,6.

Les deux solutions ont été fixées à un débit de 1 ml/min. Pour tous les échantillons et étalons, le volume injecté a été fixé à 10 µl. La détermination des composés dans les extraits a été effectuée par comparaison du temps de rétention et des spectres entre les chromatogrammes obtenus par l'analyse HPLC de l'extrait et les chromatogrammes obtenus avec des composés commerciaux purifiés.

2.6 Evaluation de l'activité antioxydante

2.6.1 Test de piégeage du radical DPPH

2.6.1.1 Principe

Le radical DPPH· ou « 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyle » est une molécule stable caractérisée par sa couleur violette qui absorbe à 517 nm. Les antioxydants sont capables de réagir avec le DPPH en lui fournissant un électron ou un atome d'hydrogène, le radical DPPH· est réduit en diphényle picryl hydrazine de couleur virant au jaune selon la réaction représentée dans la figure 29. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du DPPH qui est proportionnel au pouvoir antioxydant de la molécule testée.

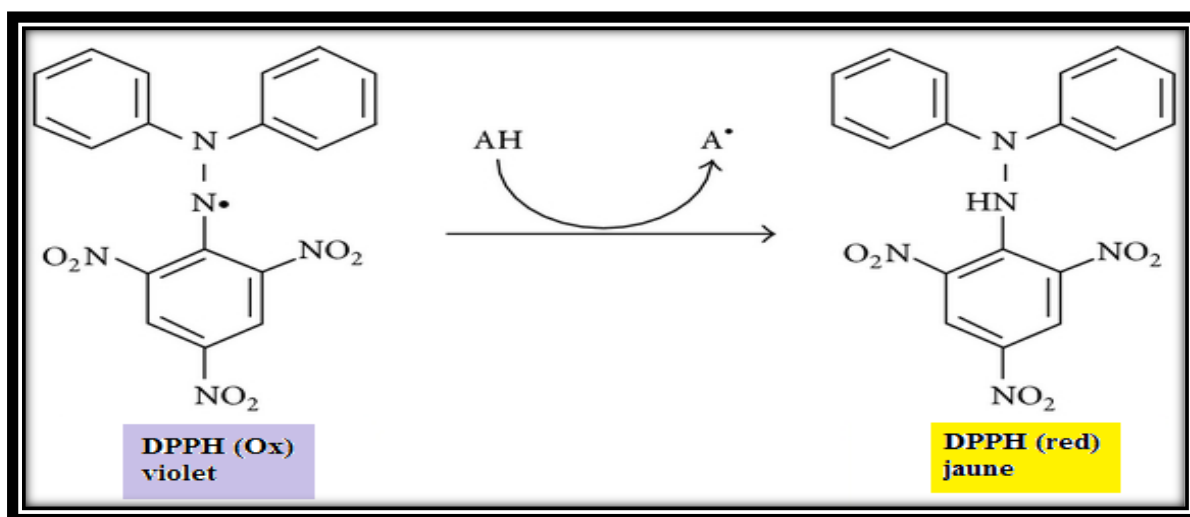


Figure 29 : Mécanisme de réaction du DPPH avec l'antioxydant. AH : piègeur de radical antioxydant ; A : radical antioxydant (Teixeira et al., 2013).

2.6.1.2 Protocole expérimental

L'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait de *H. muticus* a été réalisée selon la méthode décrite par **Burits et Bucar (2000)**. Dans un premier temps nous avons mélangé 50µl de l'extrait avec 2ml d'une solution méthanolique de DPPH à une concentration de 60mM. Le mélange obtenu est ensuite incubé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 20 minutes (25°C). Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La solution à blanc a été préparée après addition du DPPH avec le solvant d'extraction uniquement, puis l'absorbance a été mesurée par spectrophotomètre (A blanc). Les solutions standard de quercétine, d'hydroxytoluène butylé (BHT) et d'acide ascorbique ont été utilisées comme des antioxydants de références. L'effet inhibiteur du DPPH (I%) est estimé suivant la formule suivante :

$$I = \frac{(A \text{ blanc} - A \text{ échantillon})}{A \text{ blanc}} \times 100$$

L'évaluation du potentiel anti radicalaire a été réalisée par le calcul de l'IC₅₀ (la concentration de l'échantillon provoquant une inhibition de 50 %). La valeur de l'IC₅₀ a été déterminée graphiquement en traçant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'échantillon. La valeur de l'IC₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité la plus élevée.

2.6.2 Test de pouvoir réducteur

2.6.2.1 Principe

La méthode FRAP (ferric reducing antioxidant power) est basée sur la réduction de l'ion Fe^{3+} en ion Fe^{2+} selon la réaction représentée dans la figure 30. L'estimation du pouvoir antioxydant est déterminée par la mesure de l'absorbance. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des échantillons testés.

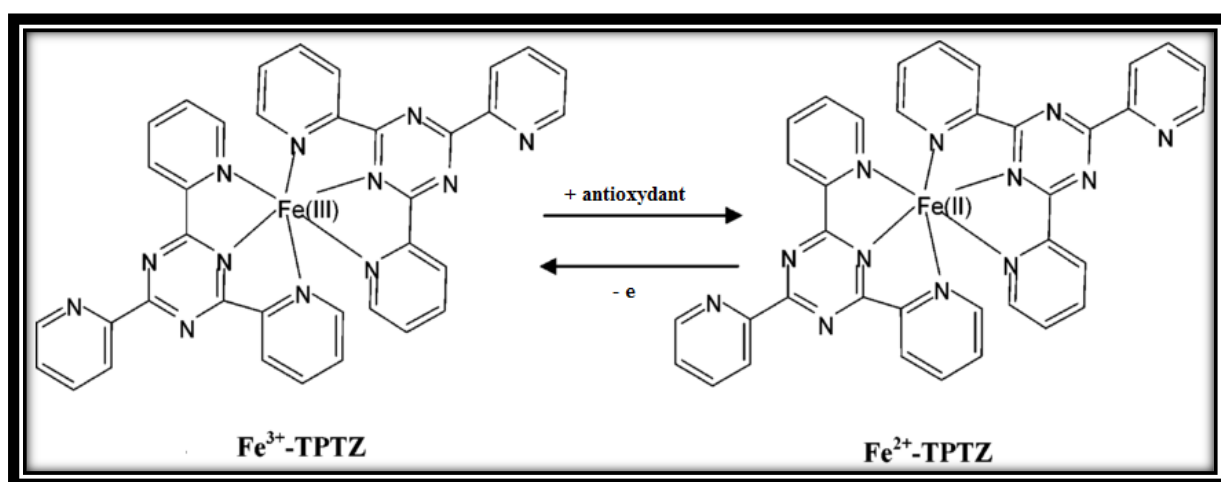


Figure 30 : Réaction FRAP entre Fe^{3+} et l'antioxydant réducteur (Pérez-Cruz et al., 2020).

2.6.2.2 Protocole expérimental

Le test du pouvoir réducteur de l'extrait a été effectué comme décrit précédemment par Oyaizu (1986). La solution testée a été préparée en mélangeant 1 ml de l'extrait végétal avec 2,5 ml de tampon phosphate (200 mM, Ph 6,6), et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1%. Le mélange obtenu a été incubé à 50°C pendant 20 minutes. La solution a ensuite été mélangée avec 2,5 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 10%, puis centrifugée à 3000 rpm pendant 10 minutes. Un volume (2,5 ml) de la solution de la couche supérieure obtenue a été mélangé avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique (FeCl_3) à 0,1%. L'intensité de la couleur obtenue par la réduction des ions Fe^{3+} a été mesurée à 700 nm en utilisant un spectrophotomètre UV. Les données obtenues ont été utilisées pour calculer la valeur IC_{50} .

3. Résultats

3.1 Rendement de l'extraction par Soxhlet

Le rendement de l'extraction au Soxhlet par le méthanol des feuilles de *Hyoscyamus muticus* est de 38,8 %.

3.2 Etude phytochimique de l'extrait méthanolique de *H. muticus*

3.2.1 Analyses quantitatives

3.2.1.1 Evaluation de la teneur en polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques, obtenue par la méthode de Folin-Ciocalteu, a été évaluée à $23,810 \pm 1.037$ mg EAG /g, exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme. L'estimation de la teneur des polyphénols totaux a été réalisée à l'aide d'une courbe d'étalonnage. Cette courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2=0,9982$ (voir figure 1 annexe 2).

3.2.1.2 Evaluation de la teneur en Flavonoïdes

La teneur des flavonoïdes dans l'extrait de *H. muticus* a été réalisée suivant la méthode colorimétrique. La catéchine, flavonoïde de la sous classe des flavonols, a été utilisée dans ce test pour élaborer une courbe d'étalonnage. La courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2=0,9995$ (voir figure 2 annexe 2). En se basant sur cette courbe, la teneur des flavonoïdes a été estimée à $13,663 \pm 1,037$ (mg Equivalent de catéchine ECt/g de la matière sèche).

3.2.1.3 Evaluation de la teneur des tannins

La teneur des tannins dans l'extrait a été estimée à $2,525 \text{ mg} \pm 0,407 \text{ mg ECt/g}$ de la matière sèche (mean \pm SEM, n=3). Le composé de référence utilisé pour l'établissement de la courbe d'étalonnage est la catéchine. Cette courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2=0,9998$ (voir figure 3 annexe 2). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mgECt/g MS).

3.2.2 Analyse de la composition moléculaire de MEHM

Le chromatogramme obtenu pour l'extrait MeOH est représenté dans la figure 31 tandis que les résultats des analyses qualitatives sont donnés dans le tableau IV. L'analyse du chromatogramme montrait la présence de plusieurs pics qui correspondent aux différents métabolites secondaires présents dans l'extrait de *H. muticus*. L'identification des pics a été réalisée en comparant le temps de rétention (Tr) obtenu pour chaque pic avec le temps de rétention mesuré pour les composés de références purifiés. L'analyse quantitative de l'extrait indiquait que l'acide quinique (0.192 mg EAG/100 gMS), la quercétine (0.164 mg EAG/100 gMS) et l'acide gallique (0.146 mg EAG/100 gMS) sont les composés majoritaires de l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus muticus*. Les autres composés identifiés dans notre extrait sont l'acide ascorbique, l'acide syringique, la naringénine et l'acide férulique.

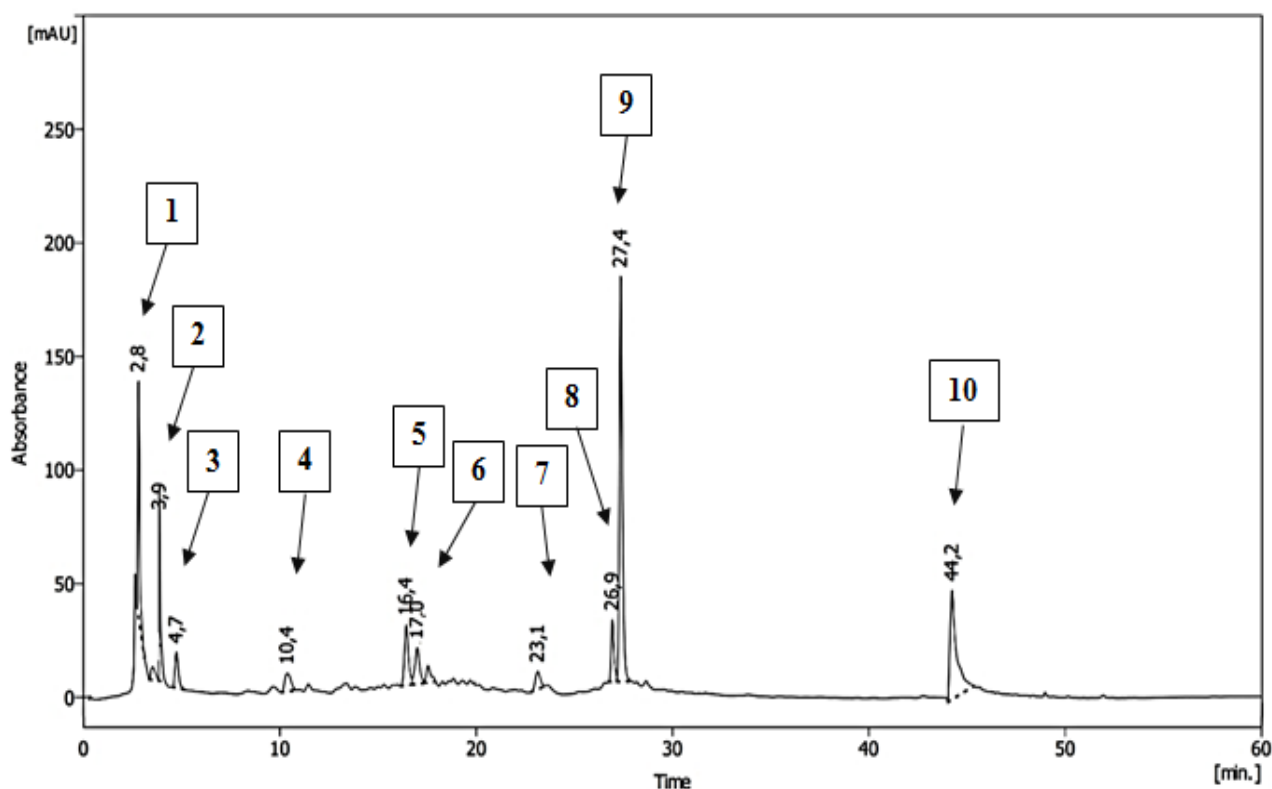
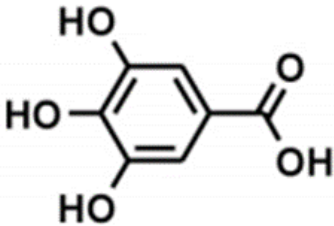
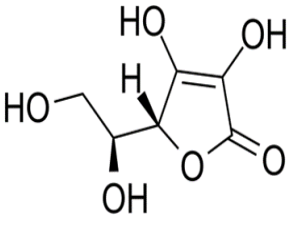
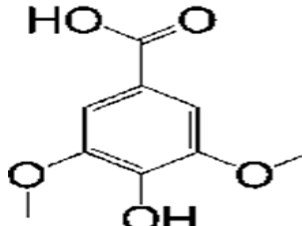
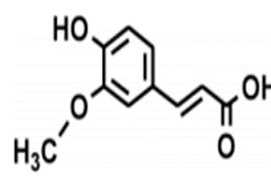
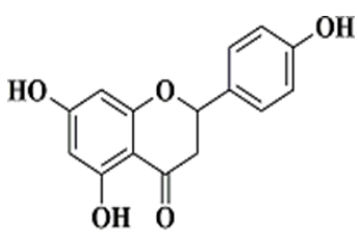
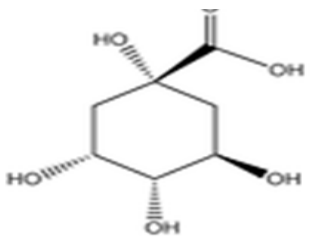
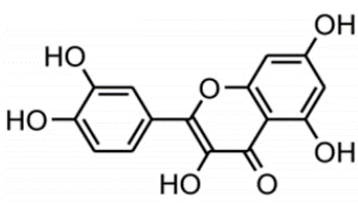


Figure 31 : Chromatogramme montrant les pics obtenus pour l'analyse de MEHM. Les pics représentent les métabolites suivants : 1 : Acide gallique, 2 : Acide ascorbique, 3 : composé non identifié, 4 : composé non identifié, 5 et 6 : Acide syringique, 7 : Acide férulique, 8 : Naringénine, 9 : Acide quinique, 10 : Quercétine.

Tableau VI : Composés phénoliques présents dans l'extrait de *H. muticus*.

Pics	Temps de rétention pour les standards (Min)	Temps de rétention obtenus (min)	Concentration (mg EAG/100 g DM)	Formule chimique	Structure chimique
1	2,81	2,8	0,146	C ₇ H ₆ O ₅	 <p>Acide gallique</p>
2	3,88	3,9	0,135	C ₆ H ₈ O ₆	 <p>Acide ascorbique</p>
5	16,43	16,4	0,135	C ₉ H ₁₀ O ₅	 <p>Acide syringique</p>
6	17	17,0	0,131		
7	23,13	23,1	0,125	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	 <p>Acide férulique</p>

8	26,93	26,9	0,131	$C_{15}H_{12}O_5$	 <p>Naringénine</p>
9	27,35	27,4	0,192	$C_7H_{12}O_6$	 <p>Acide quinique</p>
10	44,23	44,2	0,164	$C_{15}H_{10}O_7$	 <p>Quercétine</p>

Le composé 3 et 4 pourrait être correspond successivement à la scopolamine et à la hyoscyamine. Les arguments en faveur de cette identification sont :

- la famille des solanacées est souvent connue pour contenir les alcaloïdes tropaniques notamment la scopolamine et la hyoscyamine (figure 35).

- le temps de rétention obtenu correspond au temps de rétention obtenu dans d'autres études antérieures en utilisant la même espèce de plante.

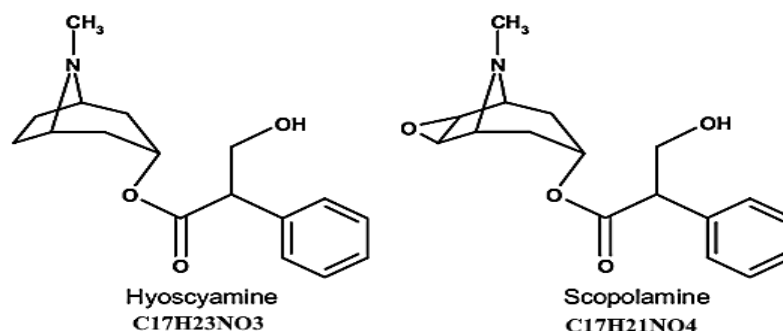


Figure 35 : Structure chimique des principaux alcaloïdes identifiés dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Hyoscyamus muticus* (Palazon et al., 2008).

3.3 Résultats de l'activité antioxydante

Dans le test du DPPH, nos résultats indiquent que l'IC₅₀ calculé pour l'extrait est égal à 36,29 ± 0,53 mg/ml, cette concentration est plus élevée que celle calculée pour la quercétine, l'acide ascorbique et le BHT (Tableau VII). Dans le test du pouvoir réducteur, la valeur de IC₅₀ de l'extrait est égale à 19,35 ± 0,96 mg/ml. Cette valeur est supérieure à celle obtenue pour les antioxydants de références utilisés dans cette étude.

Tableau VII : Activité antioxydante de l'extrait de *H. muticus* et des antioxydants de références.

	<i>DPPH</i>	<i>Le pouvoir réducteur</i>
<i>Quercétine</i>	1.01 ± 0.02	1.18 ± 0.01
<i>Acide ascorbique</i>	1.81 ± 0.01	4.05 ± 0.001
<i>BHT</i>	3.47 ± 0.02	0.75 ± 0.01
<i>Extrait MEHM</i>	36.29 ± 0.53	19.35 ± 0.96

4. Discussion

L'exploration et l'identification des métabolites secondaires d'origine végétale est un domaine qui retient l'attention de nombreux chercheurs. L'utilité de ces métabolites dans la lutte contre les radicaux libres semble aujourd'hui très reconnue. Ils sont aussi impliqués dans plusieurs mécanismes qui interviennent dans la physiopathologie de plusieurs maladies. Le renforcement des défenses antioxydantes par les polyphénols pourrait être un traitement synergique semblant donc un enjeu majeur pour préserver la santé générale des populations.

A ce jour, l'espèce *Hyoscyamus muticus* a été très peu étudiée. La recherche bibliographique nous a permis de constater que seules la phytochimie et l'activité phytochimique

de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de cette espèce ont été évaluées. Ces travaux de recherche ont mis en évidence la présence de plusieurs métabolites dans l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus*. Notre étude phytochimique réalisée sur cette plante a montré la présence des quantités importantes des composés phénoliques. C'est la première étude phytochimique qui a révélé la présence de ces composés phénoliques dans les feuilles de *Hyoscyamus muticus* originaire du sud-est du Maroc. La méthode d'identification par l'HPLC vient de confirmer les premiers résultats obtenus par le dosage effectué par la spectrophotométrie. La présence de plusieurs pics dans le chromatogramme suggère la présence de différentes familles polyphénoliques dans l'extrait. Cette analyse a permis de mettre en évidence la présence de l'acide quinique, la quercétine, l'acide gallique, l'acide ascorbique, l'acide syringique, la naringénine et l'acide férulique. L'acide quinique était le plus abondant, cet acide organique est largement présent dans les extraits de plusieurs espèces de plantes.

En comparant nos résultats d'autres résultats obtenus pour la même espèce récoltée dans d'autres régions du monde, nous avons constaté beaucoup de ressemblances et quelques différences qui peuvent être attribuées aux facteurs aussi bien intrinsèques qu'aux extrinsèques. L'équipe de Elsharkawy et Ayeri-guentri ont confirmé la présence de plusieurs composés phénoliques (Ayeri-guentri et al., 2017 ; Elsharkawy et al., 2018). Quatre composés ont été identifiés par la technique d'HPLC-DAD dans l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* de la région d'adrar (Algérie), ces composés identifiés sont les suivants : l'acide transcinnamique, la quercétine, l'acide férulique et l'acide cafféique (Ayeri-guentri et al., 2017). En outre, **Elsharkawy et ses collègues** à identifier huit composés, par la technique GC-SM, dans l'extrait de *Hyoscyamus muticus* récoltée dans le nord de l'Arabie saoudite. Les trois composés majoritaires identifiés sont l'acide cinnamique, l'acide férulique et le phénol-o-methoxy (Elsharkawy et al., 2018). Ces deux études antérieures confirment nos résultats et montrent que l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* est très riche en composés phénoliques. Il est bien à noter que la concentration des composés phénoliques totaux obtenue dans notre extrait était plus élevée que les concentrations obtenues pour *Hyoscyamus muticus* d'Algérie et de l'Arabie saoudite (Elsharkawy et al., 2018 ; Ayeri-guentri et al., 2017). La concentration des composés phénoliques totaux présente dans *H. muticus* était plus importante que la concentration des composés phénoliques identifiés dans autres espèces de même genre tel que *Hyoscyamus niger* et *Hyoscyamus reticulatus* (Jassbi et al., 2014). L'absence de certains composés dans notre extrait

pourrait être liée à la géographie de la région de la récolte de l'espèce, les conditions climatiques, la saison, le type de sols, la période de récolte, le patrimoine génétique, la partie de la plante utilisée et les méthodes d'extraction. Pour s'adapter aux conditions extrêmes des zones arides et sahariennes la plante synthétise des métabolites secondaires qui pourraient être impliqués dans plusieurs effets biologiques. Des études antérieures indiquent la présence des alcaloïdes tropaniques notamment la scopolamine et la hyoscyamine. Les alcaloïdes, principaux composés de la famille des solanacées, possédant des propriétés biologiques et pharmacologiques intéressantes via leur capacité d'agir sur les récepteurs muscariniques dans différents niveaux du système nerveux central et périphérique (**Grynkiewicz et Gadzikowska, 2008**).

Dans un deuxième lieu, l'extrait a été sujet à une estimation de l'activité antioxydante par le test de DPPH et le pouvoir réducteur. La valeur d'IC₅₀ calculée était supérieure à celles des valeurs enregistrées pour les antioxydants utilisés comme des références. La valeur d'IC₅₀ la plus faible correspond à l'activité antioxydante la plus élevée. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait de *H. muticus* possède une activité antioxydante faible. Ces résultats sont en contradiction avec les résultats obtenus par l'équipe **d'Ayari-guentri et al. (2017)** en utilisant la même espèce de plante. Selon cette étude les extraits des feuilles, des tiges et des graines de *Hyoscyamus muticus* possédaient une activité antioxydante la plus élevée par rapport aux extraits des racines et des fleurs (**Ayari-guentri et al., 2017**). Les valeurs d'IC₅₀ obtenues pour la quercétine, l'acide ascorbique et BHT indiquaient que la quercétine possédait un pouvoir antiradicalaire le plus important par rapport aux d'autres standards. Les résultats de cette étude révèlent une faible activité antioxydante des feuilles de *Hyoscyamus muticus* malgré sa teneur modérée en polyphénols et flavonoïdes. Cela pourrait être expliqué par le fait que l'activité antiradicalaire des polyphénols dépend non seulement de la concentration en composés phénoliques mais aussi de leurs structures chimiques (**Felleh et al., 2008**).

5. Conclusion

Dans cette première partie nous nous sommes intéressés à l'étude de la phytochimie qualitative et quantitative de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus*. L'étude des constituants chimiques de cette plante a révélé la présence de divers composés, principalement des acides phénoliques, des flavonoïdes et les alcaloïdes. L'estimation de la concentration de quelques métabolites indique que les polyphénols sont les composés majoritaires de l'extrait suivi par les flavonoïdes et les tanins. L'acide quinique et la quercétine sont les deux composés majoritaires de l'extrait. Elle indique aussi la présence des alcaloïdes notamment la hyoscyamine et la scopolamine qui pourraient avoir une action neuropharmacologique.

Dans une deuxième partie, l'activité antioxydante a été testée par la méthode de DPPH et le pouvoir réducteur, les résultats de cette étude indiquent que notre extrait possédait une faible activité antiradicalaire.

Toutefois, les résultats obtenus au fils de ce travail constituaient les bases d'un travail à poursuivre et à améliorer pour une étude phytochimique et antioxydante beaucoup plus approfondie. Pour cet objectif, nous proposons à l'avenir :

- ✓ D'effectuer des analyses phytochimiques en utilisant d'autres techniques analytiques notamment la spectroscopie de masse et CPG...etc.
- ✓ L'évaluation de l'activité antioxydante sur d'autre extrait de la même espèce.
- ✓ Effectuer des dosages sanguins sur des animaux traités par l'extrait pour déterminer le taux des marqueurs de stress oxydatif tels que l'activité de la catalase et de la glutathion peroxydase.

Troisième partie

**Etude de la toxicité aiguë et de l'activité
analgésique de l'extrait de *Hyoscyamus
muticus***

Troisième partie : Etude de la toxicité aiguë et de l'activité antinociceptive

Chapitre 1 : Généralités

1. La douleur

1.1 Définition

La douleur est la raison la plus fréquente pour consulter un médecin, elle nous accompagne dès le plus jeune âge. C'est un mécanisme de protection auquel le corps réagit à des stimuli nocifs. Selon l'association internationale pour l'étude de la douleur (IASP), la douleur peut être définie comme une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite par le patient (**Cohen et al., 2018**). La sensation douloureuse affecte négativement des fonctions cognitives comme la concentration et la prise de décision (**Grégoire et al., 2010**). Plusieurs facteurs peuvent moduler la sensation de la douleur notamment les facteurs génétiques, physiologiques, psychologiques, socioculturels et aussi les facteurs liés à l'histoire de l'individu (**Gougeon et al., 2016**) (Figure 32). L'étude de la sensation de la douleur est très difficile à qualifier et à quantifier, car elle repose avant tout sur le ressenti du patient.

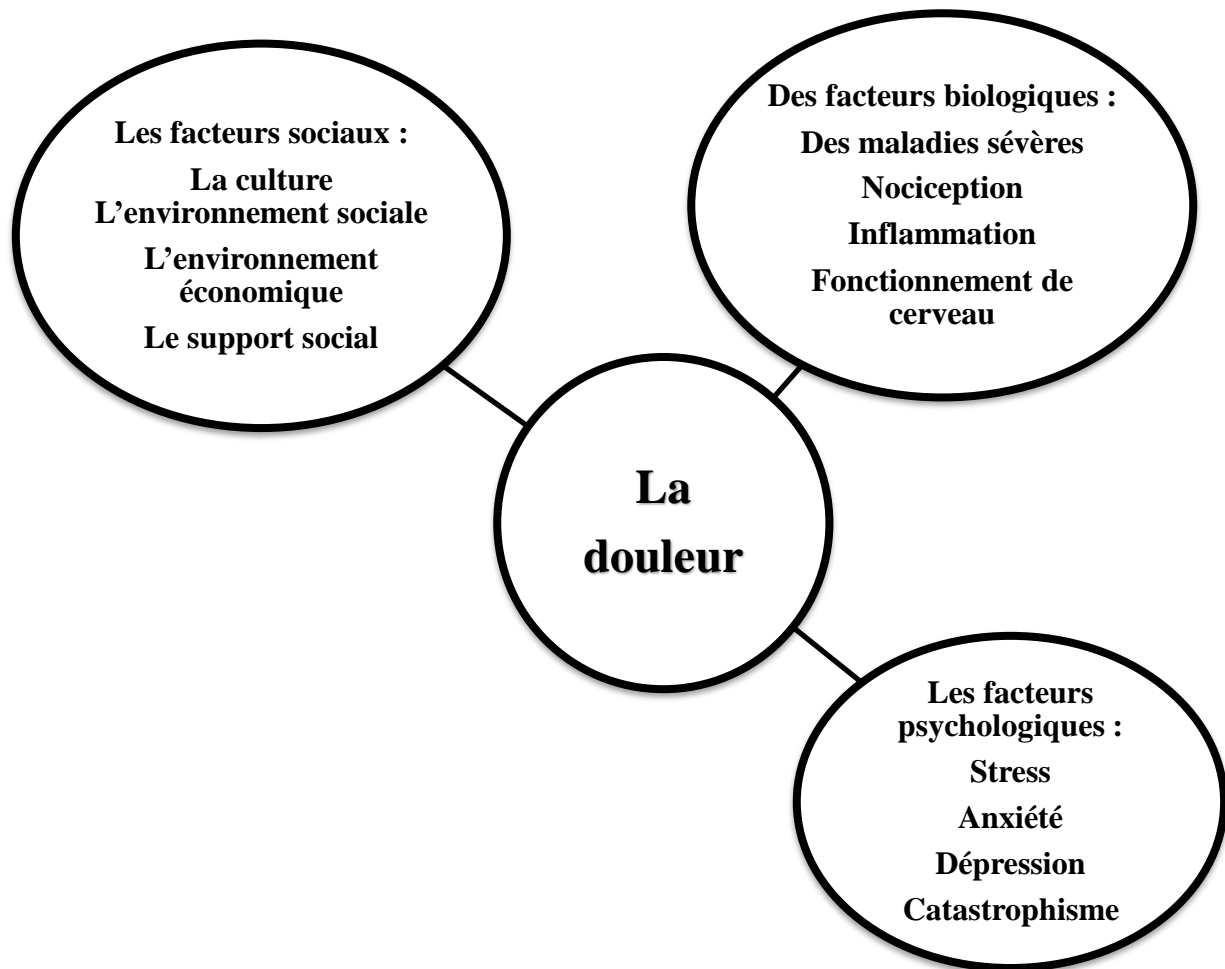


Figure 32 : Facteurs influençant la sensation douloureuse (Rousseau, 2017).

1.2 Les composantes de la douleur

La douleur implique plusieurs mécanismes anatomophysiologiques et psychologiques. **Melzack et Casey. (1968)** ont proposé trois dimensions distinctes de la douleur :

- ❖ **La composante sensori-discriminative** : c'est-à-dire les mécanismes neurophysiologiques impliqués dans le décodage des messages nociceptifs (type de la douleur, intensité, localisation et durée) (**Bourea, 1988**). L'élaboration de cette composante est due à par l'intervention du cortex sensoriel primaire (**Almeida et al., 2004**).
- ❖ **La composante affective ou émotionnelle** : C'est la diffusion de l'information nociceptive dans les régions corticales (préfrontales et limbique) qui est responsable de ces sentiments désagréables accompagnés avec la douleur (**Dallel et al., 2003**).

- ❖ **La composante cognitive** : liée à l'ensemble des processus mentaux susceptibles d'influencer la sensation douloureuse (capacité à la gestion de la douleur, culture, religion, histoire de l'individu). Elle se caractérise par l'implication de système limbique (Boureau, 1988 ; Dallel et al., 2003).

1.3 Types de douleur

1.3.1 La classification basée sur le plan clinique

En nous basant sur le plan clinique, nous distinguons trois types de douleurs :

- ❖ **Les douleurs nociceptives** : dues à l'excitation des nocicepteurs par des facteurs exogènes potentiellement dangereux pour l'organisme.
- ❖ **La douleur neuropathique** : c'est une douleur associée à une lésion ou une maladie affectant le système nerveux somatosensoriel, elle possède deux composantes distinctes (Delorme, 2016) :
 - ✓ Une composante spontanée continue (brûlure, compression, décharges électriques, coups de couteau).
 - ✓ Une composante transitoire associée à une composante provoquée par la pression, le froid ou le chaud associée à l'allodynie (douleur associée à une stimulation normalement non douloureuse) ou associée à l'hyperalgésie.
- ❖ **La douleur psychogène** : d'origine somatique sans aucune cause identifiable pouvant inclure des facteurs neuropsychologiques.

1.3.2 La classification basée sur le plan neurophysiologique

1.3.2.1 La douleur aiguë

La douleur aiguë est un phénomène complexe conditionnée par deux principaux facteurs : la perception et la sensation. La douleur peut être ressentie différemment selon l'individu et son environnement. Elle joue un rôle d'alarme pour notre organisme. Généralement, la sensation douloureuse est censée s'atténuer et disparaître après la guérison ou la cicatrisation des blessures mais dans certains cas pathologiques la douleur persiste pour une longue durée : c'est le cas des maladies inflammatoires, les lésions neurologiques et dans certains types de cancers.

1.3.2.2 La douleur chronique

La douleur chronique a été reconnue comme une douleur qui dure plus que la période normale de guérison d'une maladie, généralement chronique comme l'arthrite ou le cancer, ou d'une blessure. Elle dure ou réapparaît pendant plus de trois mois à six mois (**Guirmand et Le Bars, 1996**). Elle perd sa fonction d'alarme pour se transformer en une maladie en soi (**Rentsch, 2009**). Parmi les douleurs chroniques, on distingue classiquement les douleurs neuropathiques par excès de nociception et les douleurs psychogènes. La douleur chronique diffère de la douleur aiguë par plusieurs caractéristiques (voir le tableau VIII).

Tableau VIII : Comparaison entre la douleur aiguë et la douleur chronique (Modifié d'après **Boureau et al., 2004**)

Douleur aiguë	Douleur chronique
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Issue de stimuli nocifs qui activent les neurones nocicepteurs. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Issue l'activation des nocicepteurs, viscéraux ou somatiques.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Elle accompagne la chirurgie, les blessures traumatiques, des lésions tissulaires, l'infarctus du myocarde et les processus inflammatoires. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Elle accompagne les maladies chroniques, non traitées. ▪ Elle commence graduellement et persiste à infléchir plus de souffrance sur temps.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ La durée s'étale sur quelques jours ou semaines, mais peut persister jusqu'à 3mois. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dure généralement plus de 3mois.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ L'intensité douloureuse peut varier de léger à grave. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ L'intensité douloureuse peut varier de léger à grave.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Peut être accompagnée par de l'anxiété. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Peut être accompagnée par la dépression, la fatigue et la dépendance accrue à l'égard de la famille et des amis.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Signal d'alarme 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pas de fonction d'alarme destructrice.
<ul style="list-style-type: none"> ▪ L'implication d'un seul facteur. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Implication de plusieurs facteurs.

1.3.2.3 La douleur nociplastique

Depuis 2016, l'IASP propose une nouvelle classe de douleur sous le nom de douleur nociplastiques ; elle est définie comme n'étant pas liée à une stimulation des nocicepteurs ni à une lésion du système neurosensoriel ; elle est due à un dysfonctionnement global du système neurosensoriel, souvent qualifié de sensibilisation centrale, de mécanismes complexes non encore élucidés, faisant intervenir des interactions avec le système immunitaire (**Bertin et Pascale, 2019**).

2. La nociception

2.1 Définition

C'est le processus sensoriel à l'origine du message qui provoque la douleur, elle correspond aux quatre processus :

- ✓ **Transduction** : elle correspond à la conversion de stimuli en activité électrique dans les terminaisons périphériques des nocicepteurs.
- ✓ **Conduction** : c'est le passage des potentiels d'action, qui prennent naissance au niveau des récepteurs, à travers les axones vers les terminaisons centrales impliquées.
- ✓ **Transmission** : représente le transfert synaptique et la modulation de l'influx nerveux douloureux d'un neurone à une autre.
- ✓ **Perception** : elle correspond à la reconnaissance et à l'interprétation de stimuli par le cortex sensitif associatif (**Guirimand et Le Bars, 1996 ; Kidd et Urban, 2001**).

2.2 Les différents types des nocicepteurs

Les nocicepteurs sont des neurones sensoriels primaires qui détectent les stimulations douloureuses spécifiquement par leurs terminaisons nerveuses libres (TNL) (**Messlinger, 1996**). Une fois les stimulations nociceptives de nature physique ou chimique reçues par les TNL, celles-ci sont transformées en potentiel d'actions. Ce dernier est transmis dans les fibres nerveuses et établit des connexions synaptiques dans la lamelle I et II au niveau de la moelle épinière. L'activation des nocicepteurs résulte soit d'une stimulation directe exercée à leur niveau, soit par l'intermédiaire d'autres produits chimiques libérés par les tissus endommagés : bradykinine, prostaglandines, histamine, sérotonine (**Bernard et Rose Marie, 2006**). Les corps

cellulaires de ces récepteurs se trouvent principalement dans la racine dorsale et les ganglions trigémés. Ces nocicepteurs se trouvent dans la peau, les muscles, les articulations les os et les viscères. Au niveau cutané, on distingue deux grands types de nocicepteurs les mécanorécepteurs et les nocicepteurs polymodaux (Bars et Willer, 2004).

2.2.1 Les mécanocicepteurs

Ces récepteurs sensoriels, bien différenciés sur le plan histologique, répondent à des stimuli mécaniques intenses (pression, étirement). Ils se prolongent par des fibres de type A δ , qui ont responsables de sensations tactiles. Parmi ces mécanocicepteurs, on distingue (voir la figure 33) :

- ✓ Les corpuscules de Meissner qui répondent aux faibles pressions appliquées sur la peau.
- ✓ Les corpuscules de Ruffini qui répondent aux vibrations de basse fréquence (50 Hz).
- ✓ Les disques de Merkel qui répondent aux indentations de la peau.
- ✓ Les récepteurs des follicules pileux qui répondent aux vibrations de haute fréquence (300 Hz).

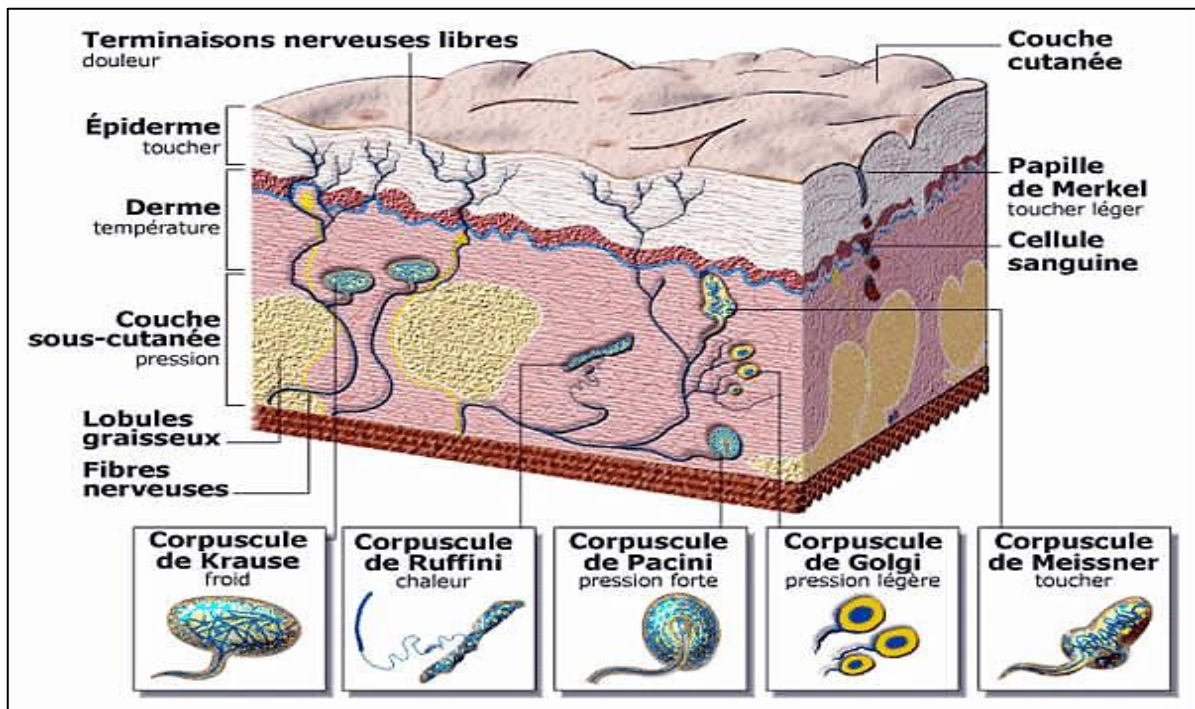


Figure 33 : Les différents mécanorécepteurs sensoriels de la perception cutanée (Bluteau, 2010).

2.2.2 Les nocicepteurs polymodaux

Ce type des récepteurs répond à toutes les modalités des stimulations nociceptives mécaniques, thermiques et chimiques de type algogènes libérés par les cellules lésées. Ils se prolongent par des fibres de type C (Delmas et Coste, 2016).

2.3 Mécanisme d'activation des nocicepteurs

Après une blessure la réaction inflammatoire se déclenche pour induire la sensibilisation périphérique (Li et al., 2014). Les médiateurs de l'inflammation entraînent plusieurs modifications post-traditionnelles en raison de l'implication des protéines PKA et PKC, au niveau des protéines formant les canaux ioniques (Figure 34). L'action des cytokines et du NGF produisent des modifications transcriptionnelles dans les noyaux des cellules nociceptives permettant la synthèse d'autres canaux transducteurs et voltages dépendants. D'autres molécules activent les nocicepteurs silencieux renforçant l'intensité de la réponse nociceptive (Osinski et al., 2017).

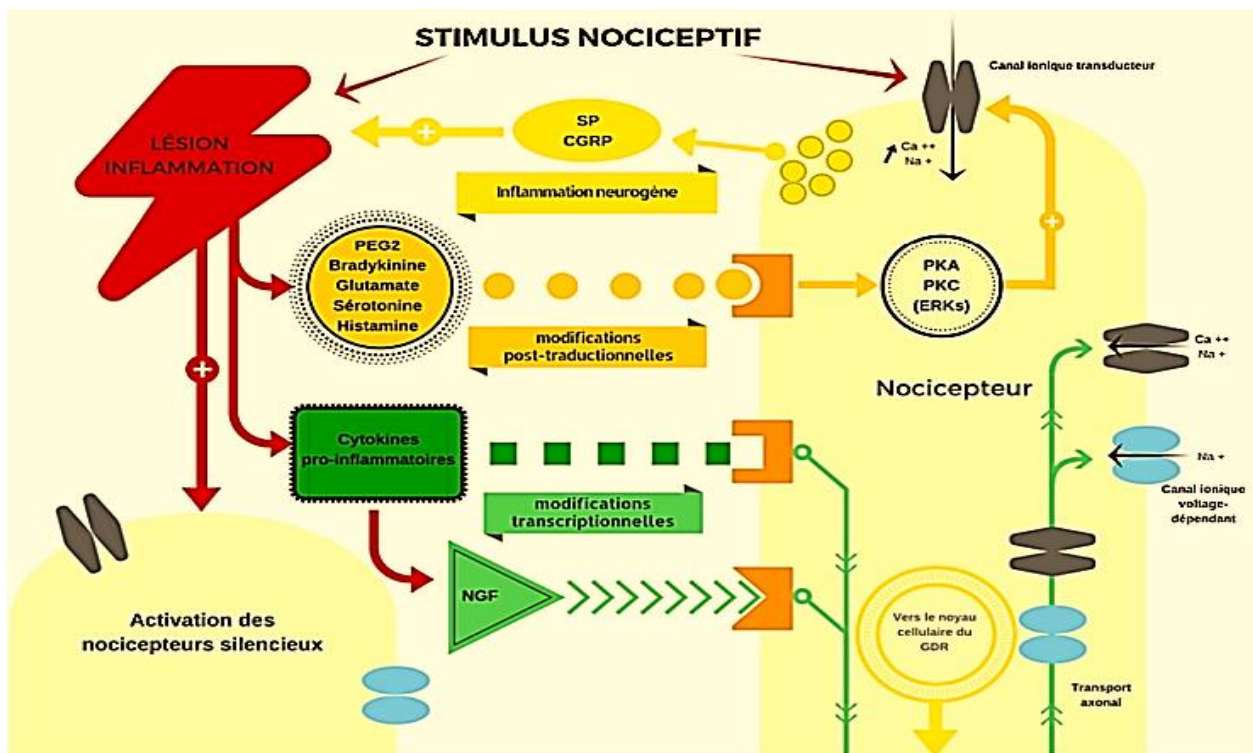


Figure 34 : Différents types de mécanismes moléculaires interviennent dans la sensibilisation périphérique (Osinski, 2017).

2.4 Transduction des messages douloureux

2.4.1 Les fibres mécanosensibles A δ et A β

Ces fibres représentent 20 % des fibres sensorielles cutanées (**Millan, 1999**). Ce sont des neurones de bas seuil d'activation, de larges diamètres (corps cellulaires $\geq 30 \mu\text{m}$), myélinisés. Par conséquent, ils conduisent l'influx nerveux par une vitesse rapide de l'ordre de 30-100 m/s. En absence de lésion, elles jouent un rôle dans la proprioception et répondent uniquement lors d'événements mécaniques non nociceptifs de faible intensité (le toucher, la vibration, et la pression légère) (**Julius et Basbaum, 2001**).

2.4.2 Les fibres nociceptives A δ et C

2.4.2.1 Les fibres A δ

Elles représentent 10 % des fibres sensorielles, spécialisées dans la nociception de type mécanique, thermique et chimique. Elles sont caractérisées par un petit diamètre (corps cellulaire $< 30 \mu\text{m}$, projection de 2-6 μm) et par un axone finement myélinisé qui conduit l'influx nerveux à une vitesse moyenne entre 12 et 30 m/s. Elles se localisent au niveau cutané, articulaire et musculaire (**Julius et Basbaum, 2001**).

2.4.2.2 Les fibres C

Ces fibres majoritaires représentent 70 % des neurones sensoriels amyélinisés. Elles possèdent un faible diamètre (corps cellulaire $< 30 \mu\text{m}$, projection de 0,4-1,2 μm) et se caractérisent par une vitesse de conduction lente (0,5-2 m/s). Elles sont localisées au niveau cutané (60-90 %), articulaire, musculaire, viscéral ($> 90 \%$) (**Millan, 1999 ; Julius et Basbaum, 2001**). On peut distinguer les fibres A δ et C par deux critères : leur seuil d'activation qui est supérieur à celui des fibres non nociceptives et leur capacité à coder l'intensité d'un stimulus nociceptif (**Besson et Chaouch, 1987**).

2.4.3 Les sites de projection des fibres nociceptives au niveau spinal

La corne dorsale de la moelle épinière est divisée en couche appelée lamina. Chaque type d'afférent possédait un domaine caractéristique de la projection dans une ou plusieurs couches. Les fibres nociceptives A δ se projettent sur les laminae I, II externe, III, IV, V de la corne dorsale de la moelle épinière (Figure 35). Les fibres C se projettent sur les laminae I, II, VI et X (Bernard et Rose Marie, 2006).

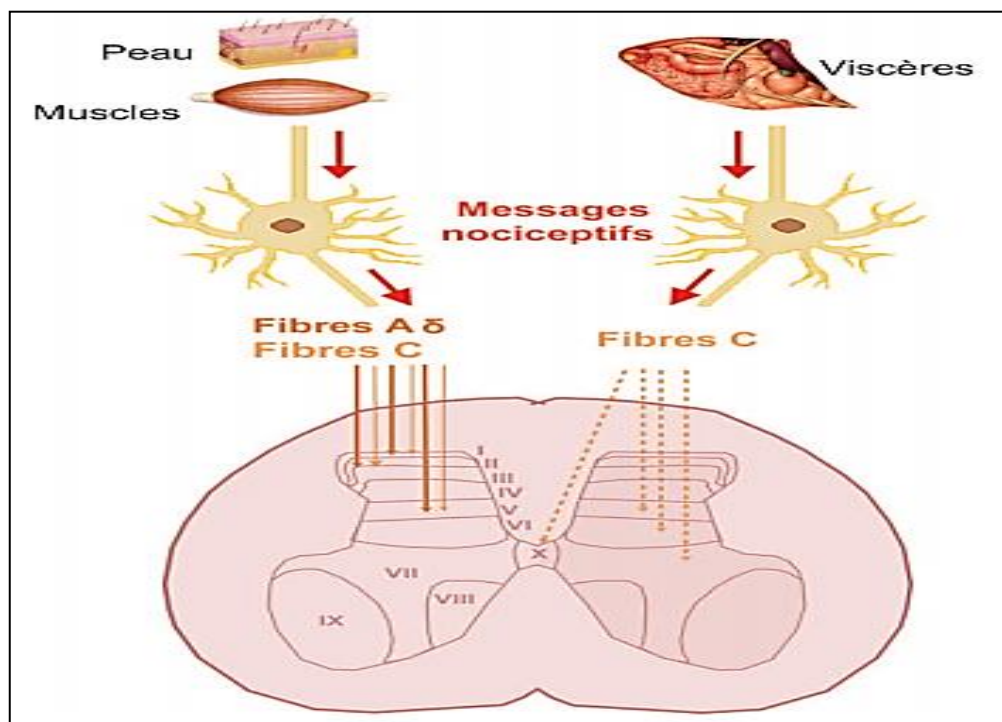


Figure 35 : Transmission des messages nociceptifs par les fibres A δ et C aux neurones de la moelle épinière (Paulmier et al., 2015).

2.5 Les voies de la douleur

La transmission de la douleur dépend principalement de l'équilibre des influences excitatrices et inhibitrices qui agissent sur les circuits neuronaux somatosensoriel. Plusieurs niveaux du SNC sont impliqués dans la transmission de douleur (Mccarberg, 2019). Il s'agit de la moelle épinière (les ganglions de la racine dorsale et la corne dorsale spinale), du noyau du raphé Magnus, de l'hippocampe, du noyau postérolatéral ventral du thalamus, du cortex

insulaire, du cortex cingulaire antérieur, du cortex somatosensoriel primaire et du cortex préfrontal (Mccarberg, 2019). La majorité des informations nociceptives cheminent via le quadrant antérolatéral de la moelle épinière (Osinski, 2017). Deux faisceaux principaux sont impliqués dans la transmission du message nociceptif à l'étage supra-spinal (voie ascendante) :

- ✚ **Le faisceau spinothalamique** chemine au niveau du cordon antérolatéral de la moelle. Les fibres impliquées sont des fibres A δ , qui se projettent directement vers les noyaux thalamiques latéraux du complexe ventrobasal ventro-postero-latéral (VPL) et ventro-postéro-médian (VPM).
- ✚ **Le faisceau spino-réticulo-thalamique** chemine au niveau du cordon antérolatéral de la moelle, et se projette vers les noyaux médians du thalamus et certaines structures du tronc cérébral dont la substance grise périaqueducale et les noyaux du raphé (Calvino, 2011 ; Calvino et Grilo, 2006).

Des voies descendantes se projetant depuis la substance grise périaqueducale (PAG) dans le mésencéphale et la région bulbaire rostroventrale (RVM) jusqu'à la corne dorsale modulent la transmission de la douleur (Yam et al., 2018) (Figure 36). La transmission des messages nerveux nociceptifs est facilitée par plusieurs neurotransmetteurs qui assurent la transmission du message nociceptif entre les différents neurones impliqués dans la perception et la transmission de la douleur. Ces neurotransmetteurs sont : les opioïdes endogènes, la sérotonine, la norépinephrine, le glutamate, la substance P, le GABA et la 5-HT (Yam et al., 2018).

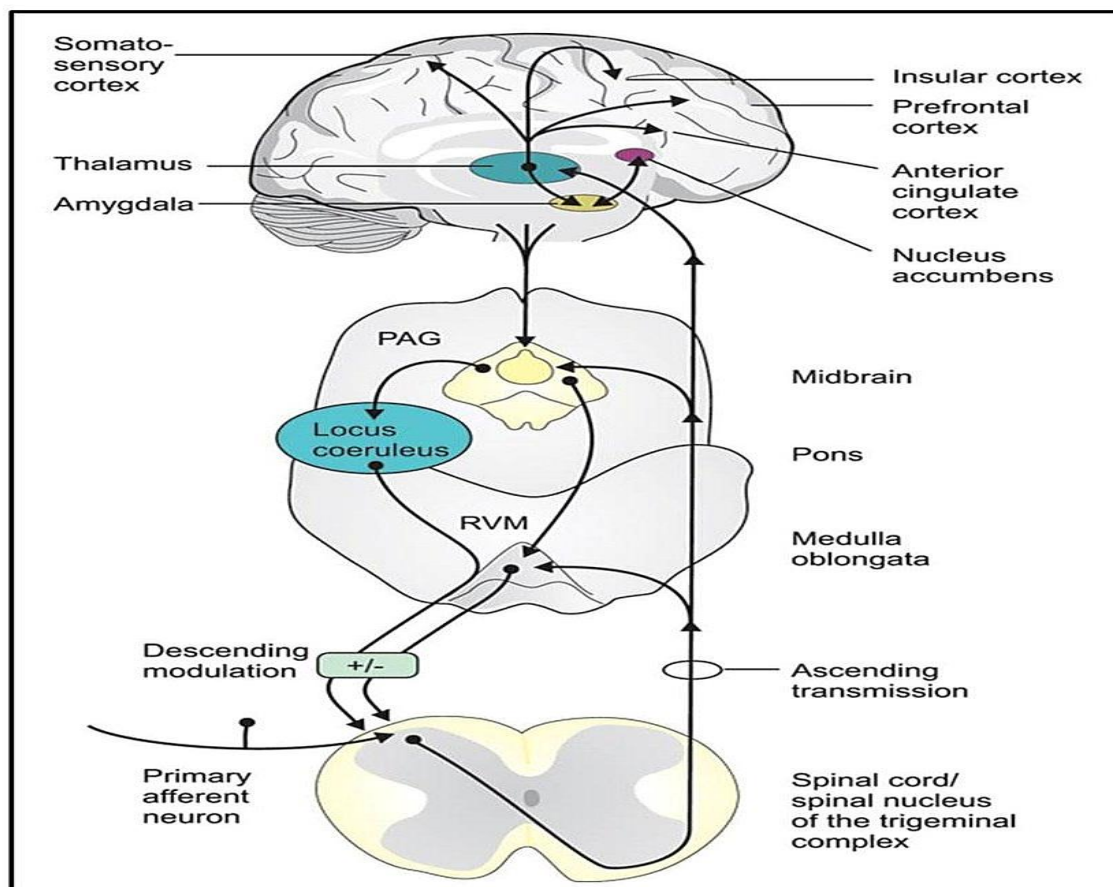


Figure 36 : Les voies de la douleur (Guilmand et Le Bars, 1996).

2.6 Les structures impliquées dans la douleur

De nombreuses structures cérébrales participent au décodage des messages douloureux. Certaines régions semblent impliquées dans l'aspect sensori-discriminatif du message nociceptif, alors que d'autres sont impliquées dans les composantes motrices, cognitives et émotionnelles. On peut déterminer trois cibles des messages nociceptifs au niveau central : la formation réticulaire bulbaire, le cortex cérébral, le thalamus, l'aire parabranchiale et la substance grise périqueducale (Calvino et Grilo, 2006 ; Calvino, 2011).

2.6.1 La formation réticulée bulbaire

C'est le site d'origine des faisceaux descendants bulbo-spinaux qui modulent la transmission spinale des messages nociceptifs (Guilmand et le Bars, 1996).

2.6.2 Le Cortex cérébral

Il forme généralement deux groupes : le premier reçoit les afférences de la voie sensori-discriminative ; le second reçoit celles de la voie motivo-affective. Les centres cérébraux impliqués dans la douleur selon **Rainville et al., (2002)** sont le cortex primaire (aire S1 de Broca), le cortex somatosensoriel secondaire (S2), le cortex cingulaire antérieur (CCA) et le cortex insulaire.

2.6.3 Le thalamus

Le thalamus est constitué de multiples noyaux gris. Ces noyaux thalamiques reçoivent les afférences des voies nociceptives forment deux groupes (**Le Bars et al., 2001**) :

- ✓ **Les noyaux du complexe ventro-basal** : ils reçoivent principalement leurs afférences en provenance de la voie spinothalamique et se projettent à leur tour vers le cortex somatosensoriel primaire et secondaire.
- ✓ **Les noyaux centromédians** : ils reçoivent principalement leurs afférences de la voie spinoréticulaire et projettent à leur tour vers différentes structures du système limbique, dont l'amygdale (**Le Bars et al., 2001**).

2.6.4 L'aire parabrachiale et la substance grise périaqueducale

Ils reçoivent des informations nociceptives qui sont ensuite transmises vers l'amygdale et l'hypothalamus ; ce qui engendre les émotions, la peur et le stress liés à la douleur (**Guilmand et Le Bars, 1996**).

2.7 Traitement médicamenteux de la douleur

L'Organisation mondiale de la santé a classé les analgésiques en trois paliers (voir le tableau IX).

Tableau IX : La classification des analgésiques selon l’OMS (Delorme, 2007).

Palier	Propriété		Famille ou molécule	Mode d’action
Palier I	Non opiacé	Antalgiques purs	Néfopam	Central
		Antalgiques antipyrétiques	Paracétamol	Central
		Antalgiques antipyrétiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires	Aspirine AINS	Périphérique
Palier II	Opiacés faibles	Agonistes	Codéine Dihydrocodéine Dextropropoxyphène Tramadol	Central
Palier III	Opiacés forts	Agonistes	Morphine Fentanyl Hydromorphone Oxycodone Péthidine	Central
		Agoniste partiel-agoniste	Buprénorphine	Central
		Agoniste-antagoniste	Nalbuphine	Central

3. L’inflammation

3.1 Généralités sur l’inflammation

Le mot inflammation provient du mot latin « Inflammare » qui signifie mettre en feu (Scott et al., 2004). La réaction inflammatoire est généralement déclenchée par des dommages aux tissus vivants. Elle est considérée comme l’une des barrières de l’immunité innée (Chrobok et al., 2017). L’inflammation est déclenchée par une infection bactérienne, virale, fongique, par des agents physiques et par un système immunitaire défectueux (Medzhitov, 2008). Dans un premier abord, la réponse inflammatoire a pour objectif de localiser et d’éliminer

les agents nocifs. Dans un second temps, cette réaction enlèvera les composants tissulaires endommagés pour permettre la cicatrisation des tissus, des organes ou des systèmes affectés (**Barnes et al., 2009**). Classiquement, la réaction inflammatoire se caractérise par quatre symptômes : gonflement, rougeur, chaleur et douleur (**Bélanger, 2006**). Cette réaction implique l'intervention de plusieurs facteurs cellulaires et moléculaires. Les macrophages neutrophiles, connus pour sécréter différents médiateurs, sont responsables de l'initiation, la progression, la persistance, la régulation et la résolution éventuelle de l'infection par état d'inflammation aiguë. L'intensité de la réponse inflammatoire dépend de l'agent infectieux, de son intensité et du tissu endommagé (**Raymondjean, 2007**). Dans certains cas pathologiques, la dérégulation de la réponse inflammatoire aiguë, si la résolution ne se produit pas dans cette phase, induit une réponse irréversible nommée « inflammation chronique ». Celle-ci se caractérise par une longue durée de quelques semaines ou des années, et l'infiltration des mononucléaires (macrophages, et lymphocytes), la destruction tissulaire et la stimulation de l'angiogenèse (**Kumar et al., 2013**). De plus, l'inflammation chronique est connue par son rôle dans le développement du diabète insulino-résistant associé à l'obésité secondaire (**Hotamisligil et al., 2005 ; Ahmed et al., 2011**).

3.2 Les médiateurs de l'inflammation

3.2.1 Les médiateurs moléculaires de l'inflammation

3.2.1.1 L'histamine

L'histamine de formule brute $C_5H_9N_3$, est une monoamine synthétisée à partir de l'acide aminé histidine, largement distribuée dans les tissus de mammifères. Cette substance est libérée principalement par les mastocytes, les basophiles, les cellules pariétales de l'estomac et les neurones histaminergique dans les ganglions basaux de l'encéphale. L'histamine peut être libérée par d'autres cellules de l'immunité telles que les cellules dendritiques, les macrophages, les neutrophiles et les cellules épithéliales (**Huang et al., 2018**). L'histamine agit sur les cellules des muscles lisses vasculaires, ainsi que sur les cellules endothéliales induisant la vasodilatation et l'augmentation de la perméabilité capillaire et l'activation d'autres cellules du système inflammatoire (**Jamet et al., 2006**).

3.2.1.2 Les cytokines

Les cytokines sont des glycoprotéines solubles de poids moléculaires variant entre 8 et 80 kDa (kilodaltons) synthétisées par les leucocytes et d'autres cellules qui ont un rôle dans les phénomènes pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Ces molécules assurent la communication intercellulaire entre les cellules immunitaires et leurs cibles. La majorité des cytokines dites pro-inflammatoires produites lors d'une réponse inflammatoire, jouent un rôle crucial dans le recrutement des neutrophiles et facilitent leur adhésion à la paroi des cellules endothéliales et leur pénétration par le phénomène de la diapédèse. Les cytokines stimulent aussi les macrophages via la stimulation de la phagocytose, production de l'interleukine 1 et de lipides pro-inflammatoires (**Descamps et Sarsat, 1996**). Les cytokines telles que l'IL-1 β , l'IL-6 et le TNF- α sont impliquées dans les processus de la douleur pathologique (**Zhang et An, 2007**).

3.2.1.3 La substance P

La substance P est un peptide d'origine neuronale produit par des cellules inflammatoires telles que les macrophages, les éosinophiles, les lymphocytes et les cellules dendritiques. Elle augmente la prolifération des lymphocytes et la synthèse des immunoglobulines, dont la production de cytokines par les lymphocytes, les macrophages et les mastocytes (**O'Connor et al., 2004**). La substance P joue un rôle primordial dans le recrutement des leucocytes vers la zone de l'inflammation, amplifiant ainsi l'intensité de la réponse inflammatoire (**O'Connor et al., 2004**).

3.2.1.4 Les eicosanoïdes

Les eicosanoïdes constituent un groupe de molécules dérivées principalement de l'oxydation de l'acide arachidonique et sont synthétisées par les cellules phagocytaires au cours des processus inflammatoires. Parmi ces eicosanoïdes on distingue :

- ✓ Les prostanoides : incluant les prostaglandines, les prostacyclines et le thromboxane A2 (TXA2).
- ✓ Les lipoxines et les leucotriènes : produits par l'action des différentes lipoxygénases.
- ✓ Les acides eicosatétraoïques : issus de l'action des époxygénases du cytochrome P450.
- ✓ Les isoprostanes : résultant de l'action des radicaux libres sur l'acide arachidonique.

3.2.1.5 Les prostaglandines

Les prostaglandines sont des molécules de nature lipidique (acide gras) obtenues à partir de plusieurs transformations enzymatiques d'un précurseur endogène : acide arachidonique (Figure 37). La biosynthèse des prostaglandines est augmentée d'une manière significative dans les tissus inflammés (**Ricciotti et Fitzgerald, 2011**).

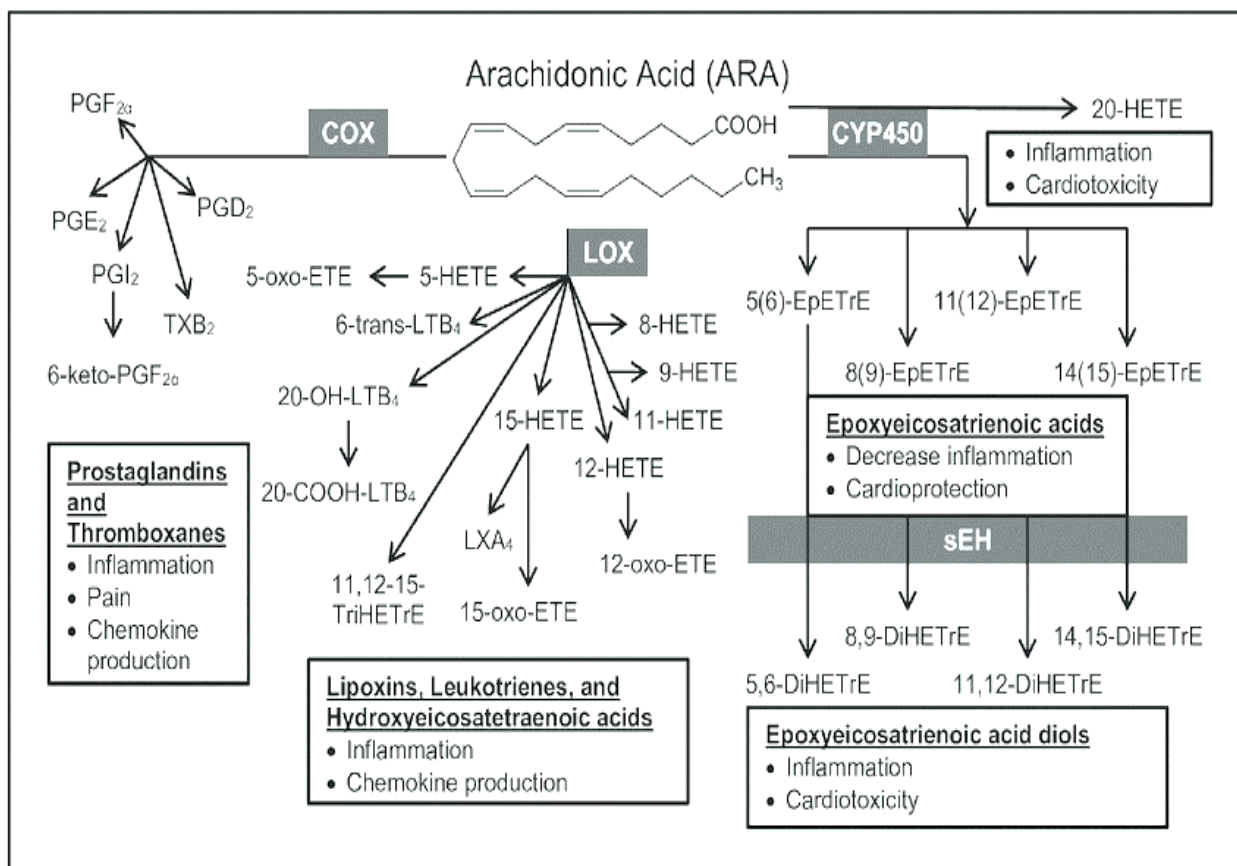


Figure 37 : Les dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique (**Martinez et al., 2018**).

3.3 Les plantes médicinales et l'inflammation

Divers mécanismes d'action ont été proposés pour expliquer l'activité anti-inflammatoire des plantes médicinales. Les métabolites secondaires des plantes peuvent agir à plusieurs niveaux dans le processus inflammatoire (Figure 38).

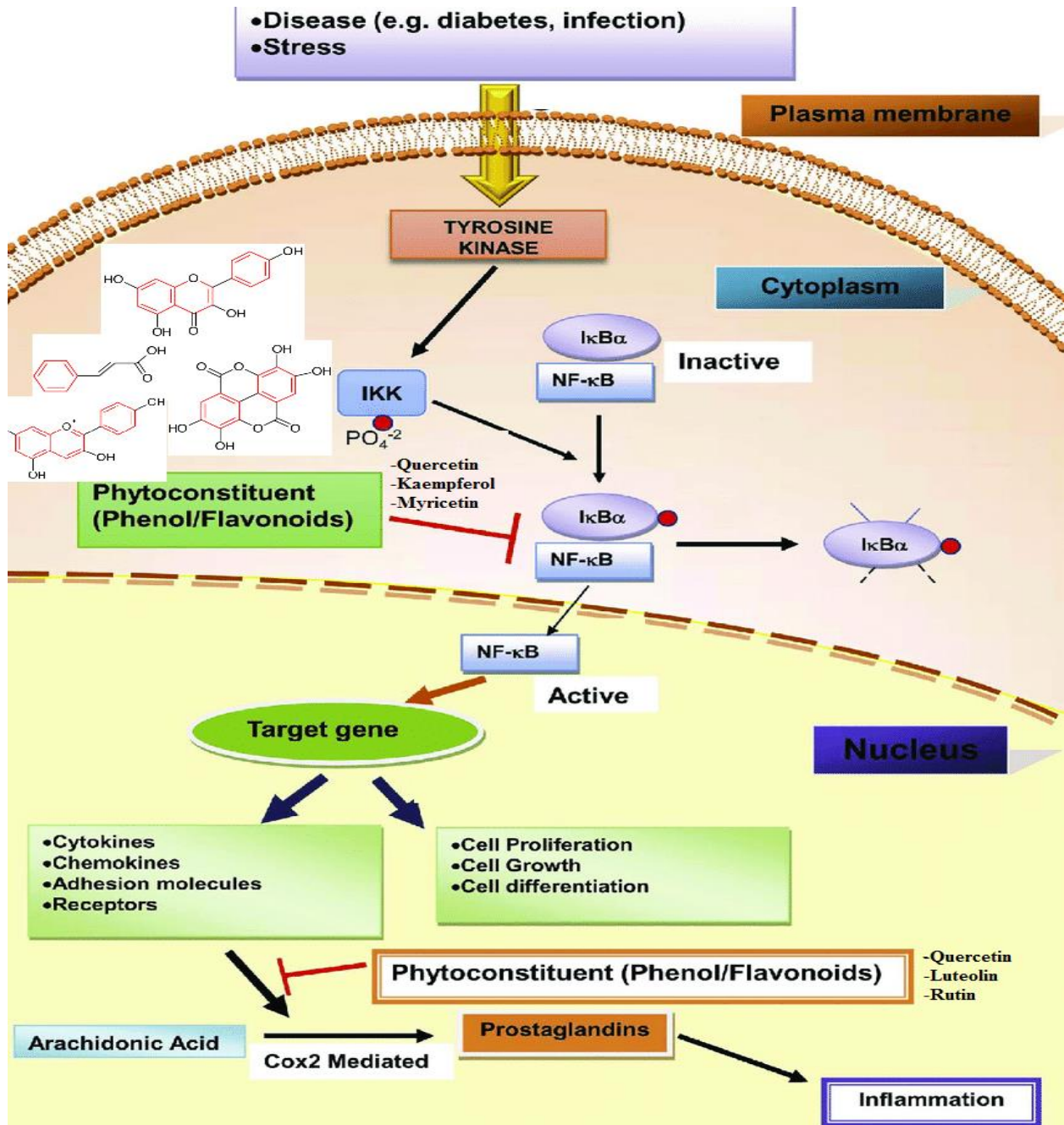


Figure 38 : Quelques mécanismes d'inhibition de l'inflammation par des métabolites secondaires des PMs [Figure adaptée de (Yatoo et al., 2017)]

3.3.1 Inhibition des 15 - Lipoxygénases (LOX)

Les lipoxygénases (LOXs) constituent une famille des protéines monomères qui catalysent l'oxydation des acides gras polyinsaturés comme l'acide arachidonique, l'acide

linoléique et linolénique (**Chedea et Jisaka, 2013 ; Kobe et al., 2014**). La 15-LOX est une enzyme clé impliquée dans la synthèse des médiateurs inflammatoires notamment les leucotriènes à partir de l'acide arachidonique. Les leucotriènes sont impliqués dans nombreuses voies pro-inflammatoires et les réactions allergiques. L'inhibition de la synthèse du leucotriène par l'enzyme 15-LOX est considérée comme l'un des mécanismes thérapeutiques les plus efficaces dans la gestion des maladies inflammatoires (**Dobrian et al., 2011**). La voie de 15-LOX est aussi à l'origine de la production des proinflammatoires dans les éosinophiles et les mastocytes des patients allergiques. L'inhibition de 15-LOX pourrait être une cible intéressante pour le traitement des troubles tels que l'asthme, la rhinite et les allergies (**Sadeghian et Jabbari, 2015**). Des études antérieures ont confirmées le pouvoir inhibiteur des plantes médicinales contre l'activité de 15-LOX (**Hung et al., 2018 ; Ogunwa, 2018 ; Lončarić et al., 2021**).

3.3.2 Inhibition de la cyclooxygénase (COX)

La cyclooxygénase est une oxydoréductase permettant la synthèse des prostanoides (prostaglandines, prostacyclines et thromboxanes) à partir de l'acide arachidonique. Les prostaglandines sont impliquées dans nombreuses fonctions dont la genèse de la douleur et l'inflammation. Il existe deux formes isomères de COX : la COX 1 et COX 2 (**Mitchell et Kirkby, 2018**). L'inhibition de ces enzymes a été signalée comme étant la cible d'action de plusieurs composés dérivés des plantes à effet anti-inflammatoire (**Nworu et al., 2015**). De plus, certains polyphénols inhibent significativement la synthèse de prostaglandine de type E2 et atténuation de l'expression de la COX-2 (**Madden et al., 2009**).

3.3.3 L'inhibition de l'oxyde nitrique (NO)

L'inhibition d'oxyde nitrique est une caractéristique des flavonoïdes. Les flavonoïdes végétaux inhibent l'inflammation par le biais de l'inhibition de la production d'oxyde nitrique (NO). De même, les flavones et les flavones aminosubstituées inhibent la production de NO et par conséquent provoquent l'inhibition de l'inflammation (**García-Mediavilla et al., 2003**).

3.3.4 Inhibition de la phospholipase A2 (PLA2)

Les phospholipase A2 ou PLA2 constituent une famille des enzymes qui hydrolysent les phospholipides membranaires produisant ainsi des lysophospholipides et des acides gras. Le clivage de ces lipides membranaires par la PLA2 est à l'origine de la synthèse des médiateurs inflammatoires notamment les eicosanoïdes et du PAF (le facteur d'activation plaquettaire). Plusieurs études indiquent le rôle de certaines molécules phytochimiques dans la régulation de l'activité des complexes enzymatiques intervenant dans les métabolismes de l'acide arachidonique notamment la phospholipase A2. Les polyphénols comme la quercétine, ochonaflavone, ginkgetin curcumin et bilobetin exercent des effets antiinflammatoires par la réduction de l'activité de l'enzyme de la phospholipase A2 ainsi que la modulation de la production d'autres molécules proinflammatoire et l'expression des gènes proinflammatoires (Lee et al., 1982 ; Kim et al., 2014).

3.3.5 Inhibition de cytokines pro-inflammatoires

Différents types de cytokines pro-inflammatoires sont connus pour réguler les réactions inflammatoires d'une manière directe grâce à leur capacité à induire la synthèse de molécules d'adhésion cellulaire ou d'autres cytokines dans certains types de cellules. Plusieurs études ont rapporté l'inhibition des cytokines pro-inflammatoires de rats avec des extraits de plantes riches en flavonoïdes (Abdel Motaal et al., 2016 ; Omodanisi et al., 2017). Les polyphénols peuvent aussi inhiber l'expression des gènes des interleukines IL-6 et IL-8 (Mathy-Hartert et al., 2007).

3.3.6 Inhibition de la libération d'histamine

Les flavonoïdes sont capables d'atténuer la sécrétion de l'histamine pendant la phase tardive de la réaction allergique. La libération de l'histamine est régulée par les leucotriènes générés par l'action des lipoxygénases. Certaines flavones hydroxylées et les aglycones provenant des plantes médicinales peuvent inhiber la libération de l'histamine à travers l'inhibition des lipoxygénases (Petkov et al., 1981). Le tableau ci-dessous (tableau X) montre certains mécanismes d'action des flavonoïdes sur l'inflammation.

Tableau X : Les mécanismes d'action de certains flavonoïdes des plantes médicinales
(Rathee et al., 2009).

Flavonoïdes	Mécanisme d'action
Quercétine	-Inhibition de la production de NO et l'expression des protéines iNOS -Inhibition de l'activité des cyclooxygénase et lipoxygénases.
Lutéoléine	-Inhibition de la régulation à la hausse de l'adhésion de la THP-1 et de l'expression de la VCAM-1 -Inhibition de l'activité du NF- κ B
Apigenin	-Blocage de l'expression de la molécule d'adhésion intercellulaire 1 (ICAM-1), VCAM-1, et E-selectine. -Inhibition de la synthèse des prostaglandines et de la production d'IL-6, 8.
Resvératrol	-Suppression de l'expression de l'ARNm et de la protéine iNOS - Régulation de la MAP kinase phosphatase-5.
Anthocyanines et les acides hydroxycinnamiques	- Localisation dans les cellules endothéliales - Réduction de la régulation à la hausse de l'IL-8, du MCP-1 et de l'ICAM-1
Curcumine	-Diminution de l'activité de la MPO (Myeloperoxidase) et du TNF (facteur de nécrose témorale) sur la colite chronique -Réduction de l'expression des COX-2 et des iNOS.
Hespéridine, Diosmine	Inhibition de la formation prostaglandine
Amentoflavone, Bilobetin	Inhibition de phospholipase C1 et A2
Procyanidins	L'inhibition de la transcription et la sécrétion de l'IL-1Beta.
EGCG	-Inhibition de l'expression d'iNOS -Réduction de l'activité de la « NF- κ B et AP-1.
ECG	Atténuation de l'adhésion et la migration des cellules CD8+T du sang périphérique.

Chapitre 2 : Etude expérimentale de l'effet neuropharmacologique de *Hyoscyamus muticus*

1. Introduction

La douleur, un véritable problème de santé publique dans le monde, représente la première raison de faire des consultations médicales. Qu'elles soient d'origine accidentelle, métabolique, infectieuse, cancéreuse et auto-immune, la douleur provoque diverses réactions psychologiques, notamment des troubles d'anxiété, l'insomnie, la dépression, l'incapacité... etc. Ces changements influencent la qualité de vie et le rendement de la personne. Dans le monde, les douleurs chroniques affectent entre 30 et 50 % de la population (Souza et al., 2017). Selon une enquête nationale, qui a été menée au sein de la population générale, 21 % de la population participant à cette étude souffrirait de douleurs chroniques (Harifi et al., 2013). Les antalgiques et les anti-inflammatoires sont parmi les médicaments les plus prescrits pour le traitement des douleurs, mais la majorité de ces médicaments possèdent des effets indésirables (Carter et al., 2014 ; Sloom et al., 2015). La présence de ces complications secondaires a conduit à faire appel aux connaissances anciennes associées aux médecines alternatives et à la recherche de moyens pour les développer afin d'en extraire des molécules efficaces avec moins d'effets secondaires. Plusieurs études expérimentales in vivo et in vitro se sont intéressées à l'activité antinociceptive de centaines d'espèces de plantes médicinales. Les substances phytochimiques issues de ces plantes peuvent être capables de réduire la douleur de différentes manières, notamment en excitant les récepteurs opioïdes, en améliorant les niveaux de peptide opioïde, en réduisant la libération de NO et en bloquant les canaux calciques et potassiques (Xiao et al., 2016 ; Zakaria et al., 2018).

2. Matériel et méthode

2.1 Les animaux et substances chimiques utilisées

2.1.1 Les animaux

Des souris Swiss Albino, mâles et femelles (22-34g) élevées dans l'animalerie de la faculté des sciences Semlalia, université Cadi Ayyad (Marrakech-Maroc) ont été utilisées dans toutes les expériences pharmacologiques et comportementales. Les animaux ont été maintenus

dans un environnement contrôlé dans des conditions standard du laboratoire : la température est de 21 ± 2 °C, un cycle lumière/obscurité de 12 h (lumières allumées de 6 h à 18 h), et une alimentation habituelle. Les animaux étaient à jeun pendant deux heures avant l'administration de toute substance. Ils ont été divisés en plusieurs groupes de six animaux chacun. Des groupes ont été traités par des doses de l'extrait de notre plante ; les lots témoins positifs ont reçu des doses de médicaments de référence ; le groupe témoin négatif ne recevant aucun traitement (eau physiologique). Les traitements et les expériences sur les animaux ont été réalisés conformément aux principes éthiques locaux de la recherche sur les animaux et aux principes déclarés par le conseil des communautés européennes de la protection des animaux du laboratoire (86/609/CEE).

2.1.2 Les solutions et les médicaments utilisés

Le tableau XI ci-dessous indique l'origine, la formule chimique et l'effet de l'ensemble des solutions et les médicaments utilisés dans cette étude.

Tableau XI : Données sur les solutions et les médicaments utilisés dans les expérimentations.

<u>Substance</u>	<u>Origine</u>	<u>Formule chimique</u>	<u>Effet pharmacologique/utilisation</u>
DMSO « Dimethyl Sulfoxide »	SIGMA-ALDRICH >99,9 % – ALLEMANGNE -	C₂H₆OS	Un solvant polaire pour solubiliser les composés organiques de l'extrait
Acide acétique	SIGMA-ALDRICH >99,8 % – ALLEMANGNE -	CH₃COOH	Utilisé dans le test de contorsions pour induire la douleur
Formaldéhyde (Formol)	SIGMA-ALDRICH 36 % – ALLEMANGNE -	CH₂O	Utilisé dans le test de formol
Morphine	SOTHERMA - MAROC -	C₃₄ H₄₀ N₂ O₁₀ S	Analgésique (activation des récepteurs opiacés)
Acétylsalicylate	ASPEGIC © 500 mg – Maroc -	C₉H₈O₄	Analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire
Atropine	PROMOPHARMA -MAROC-	C₃₄H₄₈N₂O₁₀S	Anticholinergique (Antagoniste des récepteurs muscariniques)
Naloxone	MYLAN -MAROC-	C₁₉H₂₁NO₄	Antagoniste des morphiniques

2.2 Etude de la toxicité aiguë

2.2.1 Toxicité aiguë par voie orale

La toxicité aiguë par voie orale a été étudiée chez des souris en suivant les lignes directrices 423 de l'OCDE adoptée en 17 décembre 2001 (OECD, 2001). Les souris utilisées

proviennent de l'élevage de l'animalerie de la faculté des science Semlalia, leur poids moyen varie entre 29 et 38g. Elles sont groupées en six lots :

- ❖ Lot 1, groupe témoin, recevant des doses normales de DMSO10 %.
- ❖ Lot 2, groupe témoin, a reçu une dose orale (10 ml/kg) de l'eau distillée.
- ❖ Lot 3, 4,5 et 6 ont reçu, respectivement une dose orale unique de 300, 500,1000 et 2000 mg/kg de poids corporel.

Le volume administré pour chaque animal est entre 0,20 et 0,30 ml. Tous les animaux ont été suivis pendant les quinze jours suivant l'administration des doses de l'extrait.

2.2.2 La toxicité aiguë par voie intrapéritonéale

L'extrait MEHM a été injecté par voie intrapéritonéale en une seule dose de MEHM. Au total, 42 souris ont été réparties en six groupes de six animaux chacun et chaque groupe a reçu le traitement suivant :

- ✓ **Groupe 1** : injecté par une dose de la solution de DMSO10 %.
- ✓ **Groupe 2, 3, 4,5 et 6** : injectés par une dose de 100, 500, 700, 900, 1000 et 1500 mg/kg (10 ml/kg) respectivement.

Des essais initiaux ont été effectués pour déterminer la dose minimale susceptible d'être létale pour les animaux du groupe, ainsi que la dose maximale inoffensive. Les animaux traités ont été observés en continu pendant deux heures, puis une fois par heure, puis après 24 heures, et ainsi tous les jours pendant deux semaines dans des conditions normales. Une attention particulière a été accordée à la survenue des catégories comportementales suivantes : l'agitation, les changements respiratoires, les constrictions abdominales, les convulsions, la diarrhée, le toilettage, la rotation et la réactivité à une stimulation douloureuse, la réaction aux sons et aux stimuli visuels et les réflexes. La survenue possible de décès a été enregistré quotidiennement pendant quinze jours après l'injection.

2.2.3 Détermination de la dose létale (DL₅₀) de l'extrait

Le nombre de décès qui pourrait survenir a été enregistré quotidiennement pendant quinze jours après l'injection et la dose létale médiane (DL₅₀, dose tuant 50 % du groupe), a été calculée en utilisant la méthode des probits de Finney (**Randhawa, 2009**). Le pourcentage de mortalité pour chaque dose a été transformé en probits et tracé en fonction de différentes valeurs de doses logarithmiques. Nous avons sélectionné six doses différentes pour la détermination de la DL₅₀, en partant de l'absence de décès jusqu'à une mortalité de 100 %. Nous avons transformé les pourcentages d'animaux morts à chaque niveau de dose en probits et ensuite tracé ces valeurs de probits avec différentes doses logarithmiques. Les pourcentages de la mortalité pour 0 et 100 ont été corrigés avant la détermination des probits comme indiqué ci-dessous :

- Pour la mortalité de 0 %, la formule utilisée est $100 (0,25/n)$.
- Pour la mortalité de 100 %, la formule employée est $100 (n-0.25/n)$.

La détermination de l'erreur type de la DL₅₀ a été calculée à l'aide de la formule suivante (**Randhawa, 2009**) :

$$\text{L'erreur type de la DL}_{50} = \frac{(\log LD 84 - \log LD 16)}{\sqrt{2N}}$$

Les valeurs des probits de 84 et 16 sont de 5,99 et 4,01 (environ 6 et 4) voir le tableau XII.

Tableau XII : Transformation du pourcentage de mortalité en probits.

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,76	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33

2.3 Etude de l'activité analgésique de l'extrait

2.3.1 Test de la plaque chauffante

2.3.1.1 Principe

Le test de la plaque chauffante est un test très utilisé dans l'estimation de l'efficacité des analgésiques naturels et synthétiques en suivant la réaction des animaux à la suite d'une stimulation thermique douloureuse. L'évaluation de l'extrait MEHM contre la nociception thermique a été évaluée selon la méthode de **Eddy et Leimbach (1953)**. Ce test consiste à introduire un rat ou une souris dans un espace cylindrique ouvert dont la base est formée par une plaque métallique qui est chauffée à une température constante. Les comportements tels que le saut et le léchage de pattes sont considérés comme une réaction nociceptive. Ce test est également un moyen rapide et relativement peu coûteux pour évaluer la douleur thermique aiguë sans qu'elle soit induite par le stress associé (**Turner et al., 2019**). Toutefois, les comportements des animaux pendant le test de la plaque chauffante peuvent être dépendants du profil génétique de l'animal (**Belknap et al., 1990**). La sensibilité de ce test aux mesures répétées, probablement par apprentissage, constitue un inconvénient pour son utilisation (**Espejo et Mir, 1994**).

2.3.1.2 Protocole expérimental

Les souris ont été divisées en plusieurs groupes de six animaux chacun, et traitées avec un véhicule (DSMO 10%) ou différentes doses d'extraits (50, 100 et 200 mg/kg. p.o) (voir la figure 39). Les animaux du groupe témoin positif ont reçu une injection intrapéritonéale de sulfate de morphine (10 mg/kg) 15 minutes avant l'expérience.

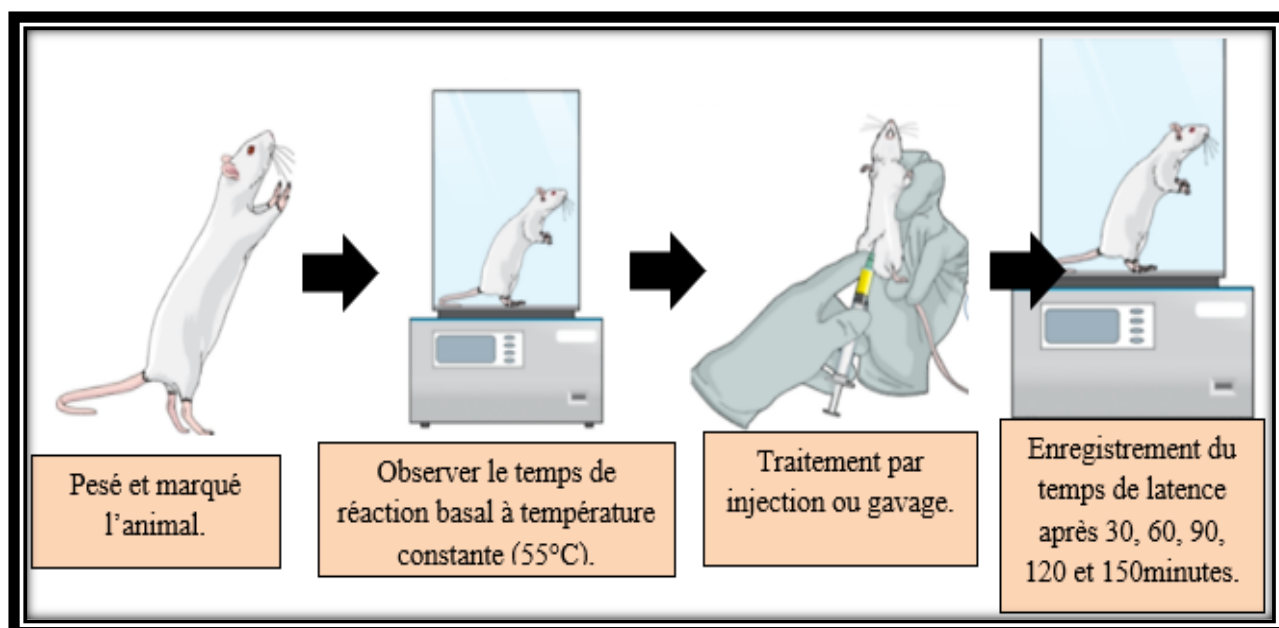


Figure 39 : Protocole expérimental suivi dans le test de la plaque chauffante.

Les animaux traités ont été placés dans la surface chauffée ($55,0 \pm 0,2^\circ\text{C}$) et nous avons mesuré le temps de latence jusqu'au début du léchage des pattes ou/et la rétraction de la queue (Figure 40). Le temps de latence a été enregistré après 30, 60, 90, 120 et 150 minutes qui suivent l'administration de différentes doses de l'extrait. Les données antinociceptives sont également présentées sous forme de % d'EMP (effet maximal possible), calculées à l'aide de l'équation $\%EMP = \frac{(T_2 - T_0)}{(T_2 - T_0)} * 100$ avec T_0 et T_1 étaient les temps de latence de postérieur (Xue et al., 2019). La réactivité de l'animal avant et après le traitement, respectivement, et T_2 était le temps limite, qui a été fixé à 18 s pour éviter toute brûlure ou blessure de la patte de l'animal (Shaheen et al., 2000).



Figure 40 : Photo d'une souris placée sur une plaque chauffante.

2.3.2 Test de contorsions abdominales (writhing test)

2.3.2.1 Principe

Ce test analyse les comportements de la douleur spontanée par l'injection d'un acide irritant (acide acétique). Ce test peut être qualifié de type tonique, car la douleur associée aux stimuli chimiques est de plus longue durée, ce qui le différencie du modèle de la plaque chauffante. Le test de contorsion est un modèle expérimental de douleur viscérale sensible aux analgésiques de très faible effet (**Koster et al., 1959**). Après l'injection intrapéritonéale de l'acide acétique, généralement de concentration entre 0.1% et 0.9%, puis nous suivons la présence ou l'absence d'un comportement stéréotypé appelé « Contorsions or Writhing en Anglais » caractérisé par des mouvements d'étirement des pattes postérieures et de la musculature dorso-ventrale (Figure 41). Le nombre d'étirements est comptabilisé pendant une période de 30 minutes. L'utilisation de l'enregistrement vidéo permet d'accroître la productivité et la fiabilité du test.

2.3.2.2 Protocole expérimental

Le protocole expérimental a été réalisé selon la méthode élaborée par **Koster et al. (1959)**, avec quelques légères modifications. L'administration de différentes doses a été réalisée une heure avant l'injection intrapéritonéale (i.p) d'acide acétique (0,6% ; v/v). Pour estimer la réaction de l'animal contre l'injection de l'acide acétique nous avons enregistré les contractions abdominales pendant 30 minutes (Figure 41). Six lots des souris Albino Swiss (n=6) ont été utilisés dans ce test selon la répartition suivante :

- **Groupe 1** : Souris traitées avec une solution de DMSO 10%.
- **Groupe 2** : Souris traitées avec une dose 50 mg/kg de l'extrait total de MEHM.
- **Groupe 3** : Souris traitées avec une dose 100 mg/kg de l'extrait total de MEHM.
- **Groupe 4** : Souris traitées avec une dose 200 mg/kg de l'extrait total de MEHM.
- **Groupe 5** : Souris traitées avec l'acide acétylsalicylique (ASA, 200 mg/kg) utilisé comme médicament analgésique de référence.

Le pourcentage d'inhibition (PI) de la réponse nociceptive pour chaque groupe a été calculé selon la formule suivante :

$$\%PI = 1 - \frac{\text{Latence dans le groupe traité}}{\text{Latence dans le groupe témoin}} * 100$$



Figure 41 : Réaction de contorsion après l'injection de l'acide acétique.

2.3.3 Test au Formol « Formalin test »

2.3.3.1 Principe

Le test au formol, décrit la première fois par **Dubuisson et Dennis (1977)**, est un modèle de douleur inflammatoire associé à des lésions tissulaires. L'injection de formol est effectuée par voie sous-cutanée dans la surface plantaire de la patte droite arrière. La quantification est basée sur le temps total passé par l'animal dans le léchage, la morsure de la patte injectée. Dans ce test on distingue deux phases de comportement nociceptif ; la phase précoce (0-5 min) et la phase tardive (15-30 min). La première phase est liée à une stimulation chimique directe des nocicepteurs alors que la deuxième phase dépend de l'inflammation périphérique (**Tjolsen et al., 1992**). Cette réponse diphasique à l'injection de formol est importante chez les souris et les rats et moins évidente chez d'autres espèces animales (**Hunskar et al., 1985 ; Tjolsen et al., 1992**).

2.3.3.2 Protocole expérimental

Les expériences liées au test de formol ont été réalisées selon le protocole décrit par **Farouk et al. (2008)**. L'expérience est basée sur l'injection sous-cutanée de 20 µl (0,02 ml) d'une solution de formalin à 2% dans la patte droite postérieure de souris. Les souris traitées par MEHM sont injectées par la solution de formol sont placées individuellement dans une enceinte en verre transparente (50×35×30cm). L'administration de différents traitements a toujours lieu une heure avant le début du test. Les souris sont réparties selon leur traitement en plusieurs groupes de six souris par groupe (n=6) :

- **Groupe 1** : traité par DMSO10%, utilisé comme un témoin positif.
- **Groupe 2** : traité par la dose 50 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 3** : traité par la dose 100 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 4** : traité par la dose 200 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 5** : traité par une dose de 200 mg/kg de l'acide acétylsalicylique (ASA), utilisée dans cette expérience comme un médicament analgésique de référence.

Le temps passé à lécher la patte droite injectée (Figure 42) a été enregistré pendant la première phase qui dure (0-5 min) ; cette phase est suivie d'une période de repos (10 min), puis d'une phase tardive (15-30min).



Figure 42 : La réaction de léchage de la patte postérieure à la suite d'une injection intraplantaire du formol (10 μ l ; 2%).

2.4 Etude de certains mécanismes impliqués

2.4.1 Étude de l'implication des récepteurs opioïdiques

Pour évaluer la participation des récepteurs opioïdes dans l'effet de la MEHM, des souris ont reçu une injection intrapéritonéale de naloxone (NLX, 2 mg/kg, i.p), antagoniste non sélectif du système opioïde, trente minutes avant l'administration de morphine ou de doses efficaces de MEHM. Les animaux ont été soumis aux tests de la plaque chauffante, du formol et de contorsions abdominales dans les mêmes conditions expérimentales précédemment décrites.

2.4.2 Étude de l'implication des récepteurs muscariniques

Nous étudions l'implication possible des récepteurs muscariniques en utilisant l'Atropine, un antagoniste de ces récepteurs. Des souris ont été prétraitées par voie intrapéritonéale avec de l'atropine (ATP ; 1 mg/kg) trente minutes avant l'administration de la dose efficace de l'extrait.

3. Résultats

3.1 Résultats de l'évaluation de la toxicité aiguë

3.1.1 Toxicité aiguë par voie orale

L'administration par voie orale de différentes doses de MEHM ne produisait aucune mortalité ; la DL_{50} est supérieure à 2000 mg/kg. Le poids des animaux n'a pas subi de modification significative pendant les deux semaines qui ont suivi le traitement. Les souris traitées par les différentes doses de MEHM retrouvent leur activité normale après quelques heures.

3.1.2 Toxicité aiguë par voie intrapéritonéale

L'injection intrapéritonéale de l'extrait à une dose inférieure à 900 mg/kg n'a pas entraîné aucune mortalité, mais elle provoque des signes de toxicité notamment l'agitation, accélération de la respiration, la faiblesse, les contorsions abdominales et toilettages excessifs. À partir de la dose de 900 mg/kg, les animaux commencent à mourir dans le même jour de traitement et les survivants retrouvent leur état normal après quelques heures. Après l'injection d'une dose de 1000 mg/kg, la majorité des animaux présentent des signes de toxicités plus importants qu'avec la dose inférieure et le décès des souris surviennent dans le même jour ou après 48 heures. L'administration de la dose de 1500 mg/kg provoque des signes très toxiques notamment la paralysie des membres postérieurs de l'animal, une faiblesse après les premières secondes qui suivent l'injection, accélération de la respiration, l'accélération du rythme cardiaque, un réflexe anormal, l'animal fait des sauts inhabituels si on touche son corps et puis arrête tout mouvement. Toutes les souris meurent dans les cinq à vingt minutes qui suivent l'administration de l'extrait (Tableau XIII). La DL_{50} de l'MEHM injectée par voie intrapéritonéale chez les souris a été calculée à 1 g/kg, et l'erreur type a été déterminée à 42,894 mg (Figure 43).

Tableau XIII : Toxicité aigüe par voie intrapéritonéale de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* chez la souris.

Dose mg/kg	Log dose	Nombre total des animaux	Mortalité			Nombre total d'animaux morts	Mortalité %	Correction %	Probits
			24 Heures	48 Heures	72 Heures				
0	-	6	0	0	0	0	0	0	-
100	2	6	0	0	0	0	0	4,16	3,26
500	2,69	6	0	0	0	0	0	4,16	3,26
700	2,84	6	0	0	0	0	0	4,16	3,26
900	2,95	6	2	0	0	2	33,33	33,33	4,56
1000	3	6	2	1	0	3	50	50	5,00
1500	3,17	6	6	0	0	6	100	95,83	6,64

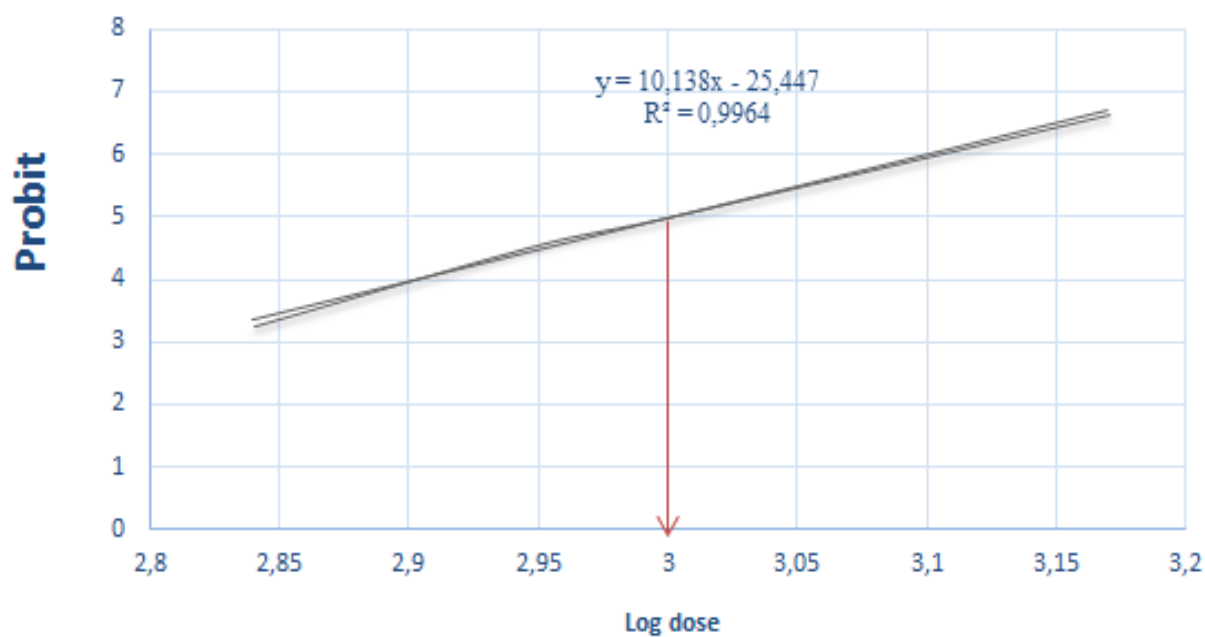


Figure 43 : Détermination de la DL₅₀ de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus*

3.2 Résultats de l'activité analgésique de l'extrait

3.2.1 Résultats du test de la plaque chauffante

Les résultats du test de la plaque chauffante sont regroupés dans la figure 44. Ces résultats montrent que le MEHM a augmenté de manière significative ($P \leq 0.001$) le temps de latence des souris sur la plaque chauffante. À 30, 60, 90 et 120 minutes, le traitement par les deux doses de l'extrait (100 et 200 mg/kg, par voie orale) a augmenté le temps de latence des souris sur la plaque chauffante. La dose 200 mg/kg a pu augmenter de manière significative ($P \leq 0.001$) le temps de latence après 60 minutes de l'administration de l'extrait. De même, le pourcentage d'effet maximum possible (% EMP) calculé pour la dose de 200 mg/kg était de 64,69 %, avec une valeur de temps de latence de (13,65 s \pm 0,31 s) à 120 min. Pour la dose de 100 mg/kg, le pourcentage de l'EMP calculé était de 36,41 %, avec un temps de latence de (10,05 s \pm 1,02 s) à 90 min alors que ce pourcentage était de 27,86% pour la dose 50 mg/kg. Pour le groupe témoin, traité par la morphine 10 mg/kg, on observe une augmentation de la durée de latence et la valeur de l'EMP enregistrée était de 81,08%. Notons que l'effet de la dose 200 mg/kg de l'extrait était plus efficace et plus long que celui de la morphine après 120 minutes qui succède l'injection.

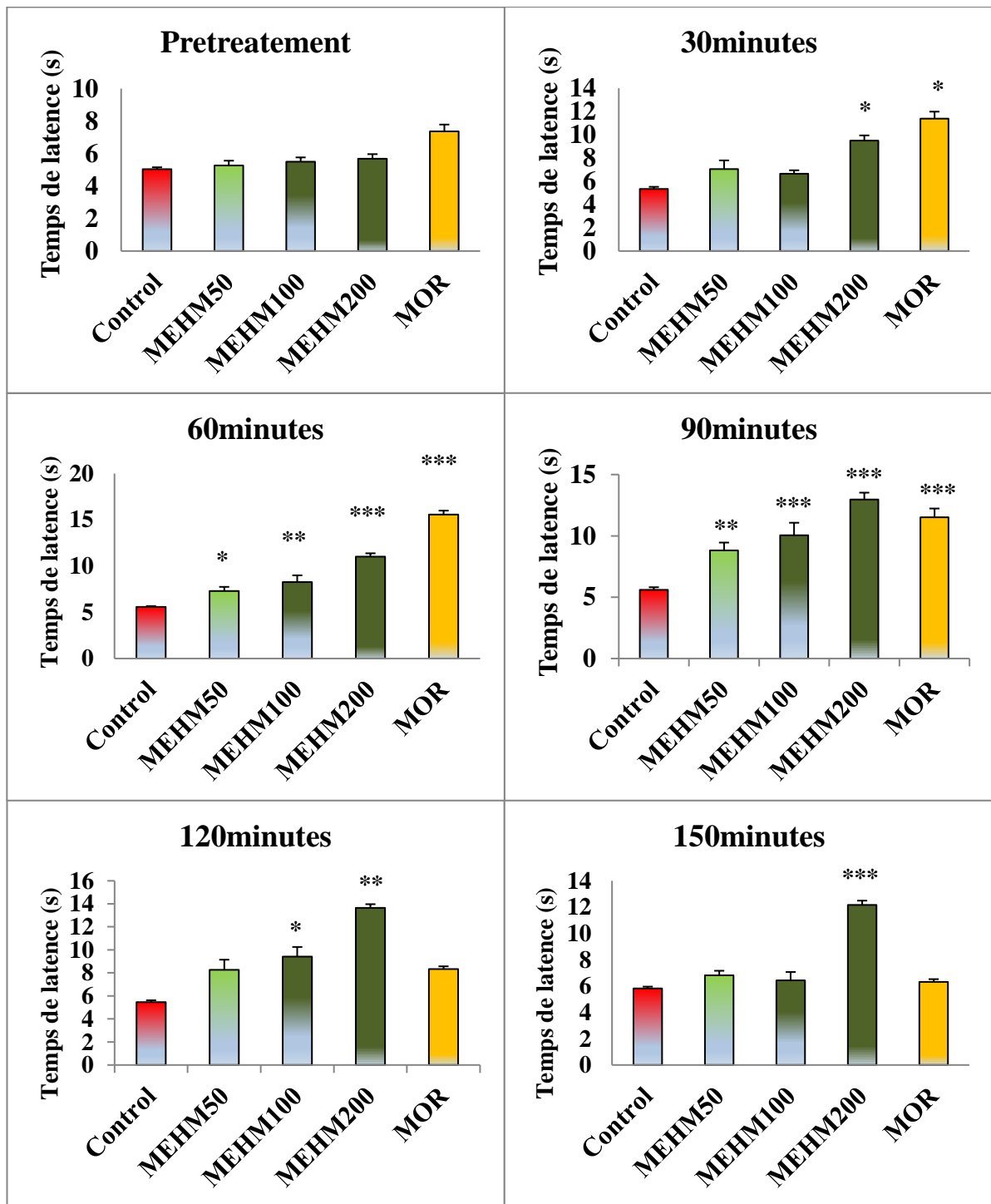


Figure 44 : Effet d'administration orale de l'extrait méthanolique à différentes doses (50, 100 et 200 mg/kg) et de la morphine (MOR, 10 mg/kg, i. p.) dans le test de la plaque chauffante (n=6). Les valeurs ont été exprimées en moyenne \pm ESM, symboles de signification utilisés (***): $P \leq 0.001$; (**): $P \leq 0.01$; (*): $P \leq 0.05$) signifie que les données obtenues étaient significativement différentes du groupe traité par DMSO 10 %.

3.2.2 Résultats du test de contorsions abdominales

Dans nos conditions expérimentales, l'administration orale des différentes doses de MEHM exerce un effet protecteur vis-à-vis de la douleur chimique. Comme indiqué dans la figure 45, l'extrait de *Hyoscyamus muticus* à la dose de 200 mg/kg, induit une diminution significative ($P \leq 0.001$) du nombre de contorsions abdominales. Le pourcentage d'inhibition maximale était de 57,82 % pour la dose de 200 mg/kg, tandis que les pourcentages calculés pour les autres doses de MEHM étaient de 11,23 % pour la dose 50 mg/kg et 19,04 % pour la dose de 100 mg/kg. Les effets analgésiques obtenus avec les différentes doses de l'extrait sont comparables aux effets analgésiques périphériques de l'acide acétylsalicylique testé à la dose de 200 mg/kg (témoin positif). L'acide acétylsalicylique permet de réduire significativement le nombre des contorsions abdominales après l'injection de l'acide acétique avec un pourcentage d'inhibition de 59,09 %.

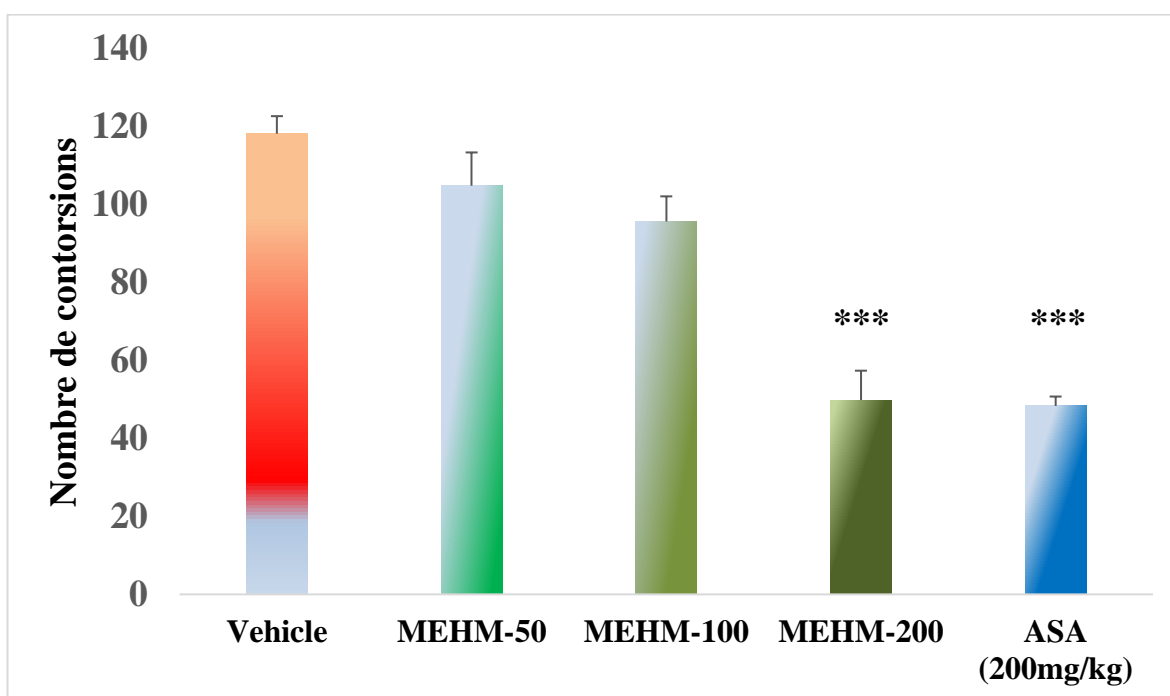


Figure 45 : Effet de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* (50, 100 et 200 mg/kg) et de l'acide salicylique ASA (200 mg/kg) sur le nombre des contorsions chez les souris traitées. Les valeurs ont été exprimées en moyenne \pm ESM et les symboles de signification utilisés (***) sont : $P \leq 0,001$ signifie que les données obtenues étaient significativement différentes par rapport au groupe témoin négatif.

3.2.3 Résultats du test au formalin

Les résultats de l'effet de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* (MEHM) et de l'acide acétylsalicylique (ASA) sont représentés dans la figure 46. Le prétraitement par les différentes doses de MEHM a entraîné une réduction significative de la douleur dans les deux phases du test au formol. Dans la phase neurogène (0-5 min), la réactivité des souris répondant à l'injection de formol a été significativement réduite, d'une manière dose dépendante, après l'administration des différentes doses de l'extrait. Le pourcentage d'inhibition maximale calculé était de 42,76 % pour la dose 200 mg/kg, et de 31,55 % pour la dose de 100 mg/kg et seulement 16, 12 % pour la dose 50 mg/kg.

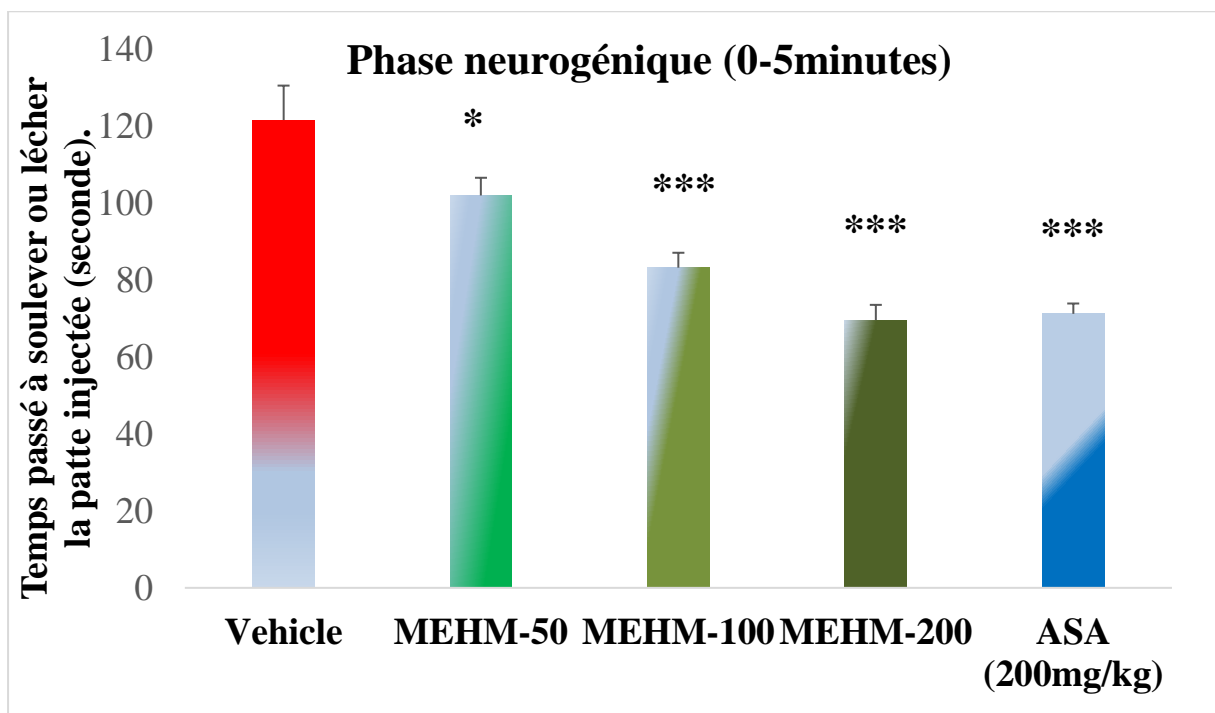


Figure 46 : Effet des différentes doses de l'extrait et de l'ASA (Acétylsalicylique) dans la phase neurogénique du test au formol. (***) : $P \leq 0.001$; (*) : $P \leq 0,05$ signifie que les données obtenues étaient significativement différentes, selon l'ANOVA suivie par la méthode de Dunnett's.

Dans la phase inflammatoire (15-30 min), l'analyse statistique des résultats indiquaient que l'extrait de *Hyoscyamus muticus*, à la dose de 100 et 200 mg/kg, était capable de réduire significativement la réactivité des animaux dans la deuxième phase de la formalin. Les pourcentages d'inhibitions pour les deux doses sont respectivement 26, 57 % et 44, 68 %. L'acide acétylsalicylique à la dose de 200 mg/kg, utilisé dans cette étude comme un analgésique

de référence, a significativement atténué ($P \leq 0.001$) la réponse des animaux dans la phase neurogénique (41, 41 %) et inflammatoire (75, 52 %). Cette inhibition était plus importante dans la deuxième phase du test au formol (Figure 47).

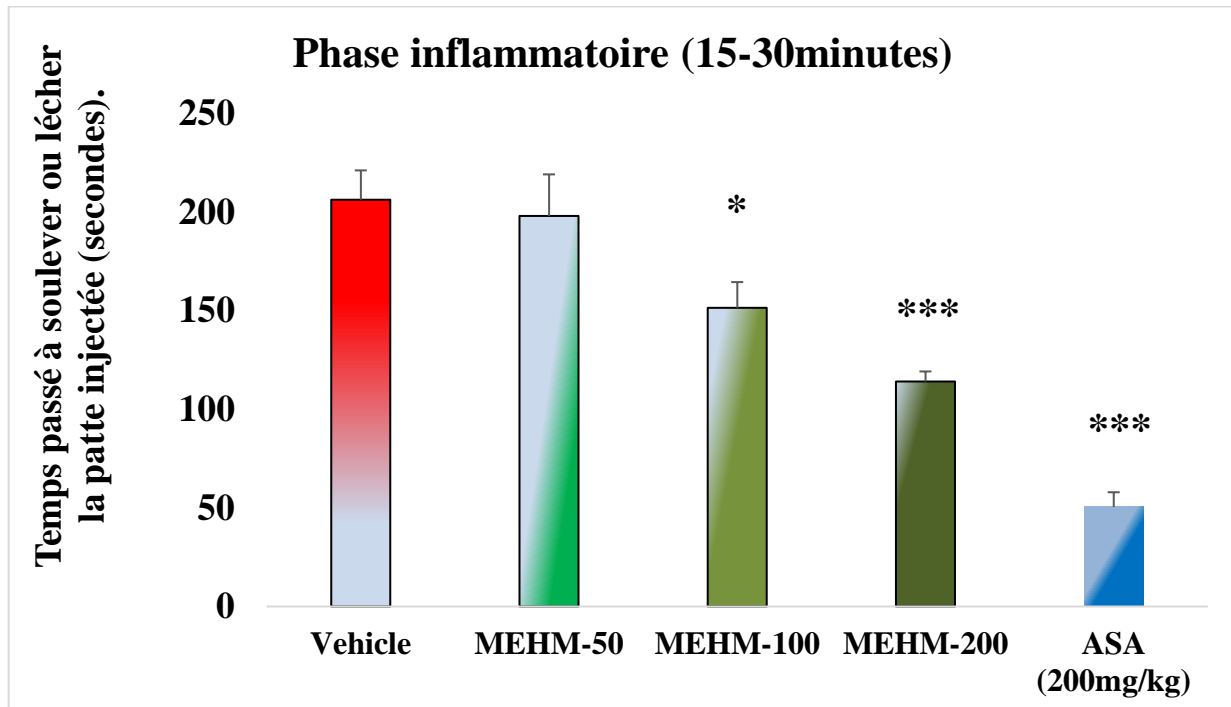


Figure 47 : Effet des différentes doses de l'extrait et de l'ASA (Acétylsalicylique) dans la phase inflammatoire du test au formol. (***) : $P \leq 0.001$; (*) : $P \leq 0,05$ signifie que les données obtenues étaient significativement différentes par rapport au groupe témoin négatif, selon l'ANOVA suivie par la méthode de Dunnett's.

3.1 Étude de certains mécanismes impliqués

Cette partie de notre travail vise à examiner les mécanismes antinociceptifs de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* dans trois modèles de douleur : un modèle thermique (la plaque chauffante) et deux modèles chimiques (le test de l'acide acétique et le test au formol).

3.1.1 Implications des récepteurs opioïdes dans l'effet antinociceptif de l'extrait.

Dans le test de la plaque chauffante, la naloxone à la dose de 2 mg/kg a inversé de manière significative l'effet antinociceptif des doses 200 et 100 mg/kg. Cette inhibition était plus importante ($P \leq 0.001$) pour la dose de 200 mg/kg par rapport à la dose de 100 mg/kg ($P \leq 0.05$).

De plus, la naloxone était capable également d'antagoniser significativement ($P \leq 0.001$) l'effet antinociceptif de la morphine dans le test de la plaque chauffante (Figure 48).

Dans le test à l'acide acétique, le traitement préalable à la naloxone a augmenté de manière significative ($P \leq 0.001$) le nombre de contorsions abdominales après l'injection d'acide acétique, par rapport à la seule dose efficace d'extrait (200 mg/kg) (Figure 49).

Dans le test au formol, la naloxone (2 mg/kg) était capable d'atténuer l'activité antinociceptive des deux doses efficaces de l'extrait (100 et 200 mg/kg) dans la phase neurogénique et la phase inflammatoire (Figure 50). Cette inhibition était plus importante pour la dose de 100 mg/kg.

3.1.2 Implications des récepteurs muscariniques dans l'effet antinociceptif de l'extrait.

Dans le test de la plaque chauffante, le prétraitement par l'atropine à la dose de 1 mg/kg induit une réduction du temps de latence enregistré pour les doses 100 mg/kg et 200 mg/kg, mais d'une manière non significative (Figure 48). Dans le test de contorsions abdominales, le prétraitement par l'atropine n'a aucun effet sur l'activité antinociceptive enregistrée pour la dose 200 mg/kg (Figure 49). Dans les deux phases du test au formol, l'effet de la dose 200 mg/kg de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* a été inversé par le traitement préalable par l'atropine (1 mg/kg) (Figure 50). Nos résultats ont indiqué que l'atropine seule n'a pas d'effet significatif sur la réponse des animaux à l'injection du formol.

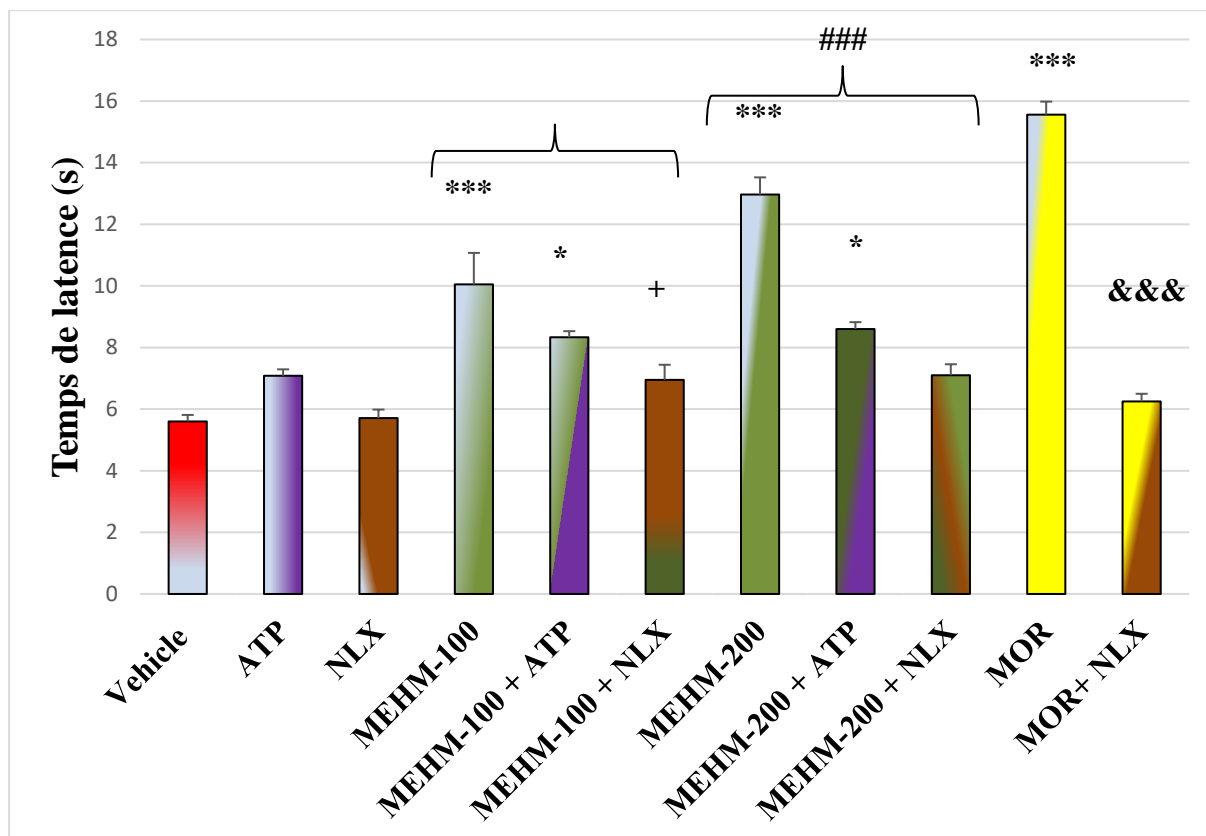


Figure 48 : Résultats de l'étude de l'action du prétraitement par la naloxone et par l'atropine sur l'activité antinociceptive de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* dans le test de la plaque chauffante. Les résultats sont exprimés en Moyenne \pm ESM (n=6). Les Symboles significatifs utilisés sont (***) : $P \leq 0.001$ comparés au groupe traité par DMSO 10 % (témoin négatif) ; (+++) : $P \leq 0.001$: comparé au groupe prétraité par la dose 100 mg/kg de l'extrait ;(###) : $P \leq 0.001$ comparé au groupe prétraité par la dose de 200 mg/kg ; (&&&) : $P \leq 0.001$ comparé au groupe traité à la morphine (MOR, 10 mg/kg). (ATP) : groupe traité par l'atropine. (NLX, 2 mg/kg) : groupe traité par la naloxone. L'analyse statistique des données a été réalisée selon l'ANOVA suivant la méthode de Dunnett pour la comparaison entre les différents groupes.

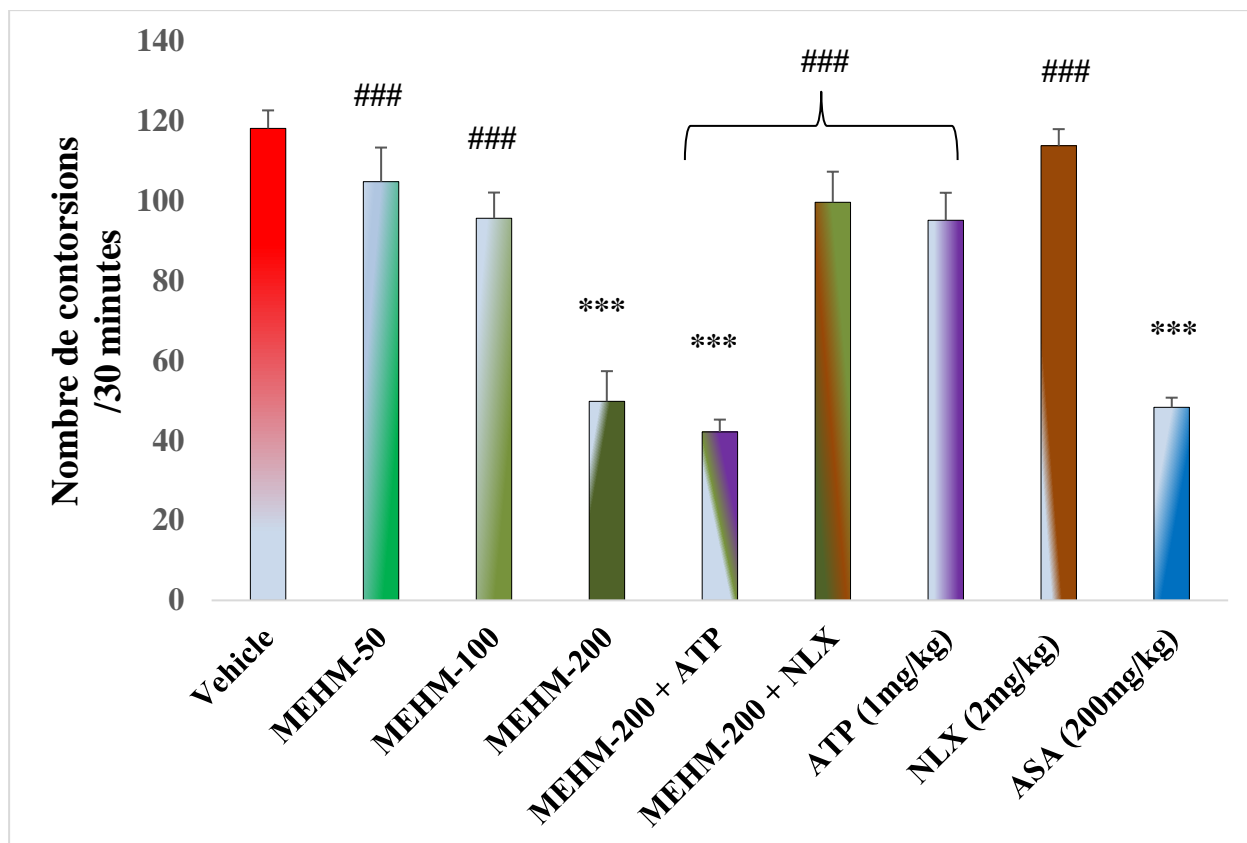


Figure 49 : Résultats de l'évaluation de l'activité antinociceptive de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* (50, 100 et 200 mg/kg) dans le test de contorsions abdominales induites par injection de l'acide acétique. (***) : $P \leq 0.001$ comparé au groupe témoin ; (###) : $P \leq 0.001$ comparé au groupe traité par la dose de 200 mg/kg. ATP : groupe traité par l'atropine (1 mg/kg). NLX : groupe traité par la naloxone (2 mg/kg). ASA : groupe traité par l'acétysalicylique (200 mg/kg).

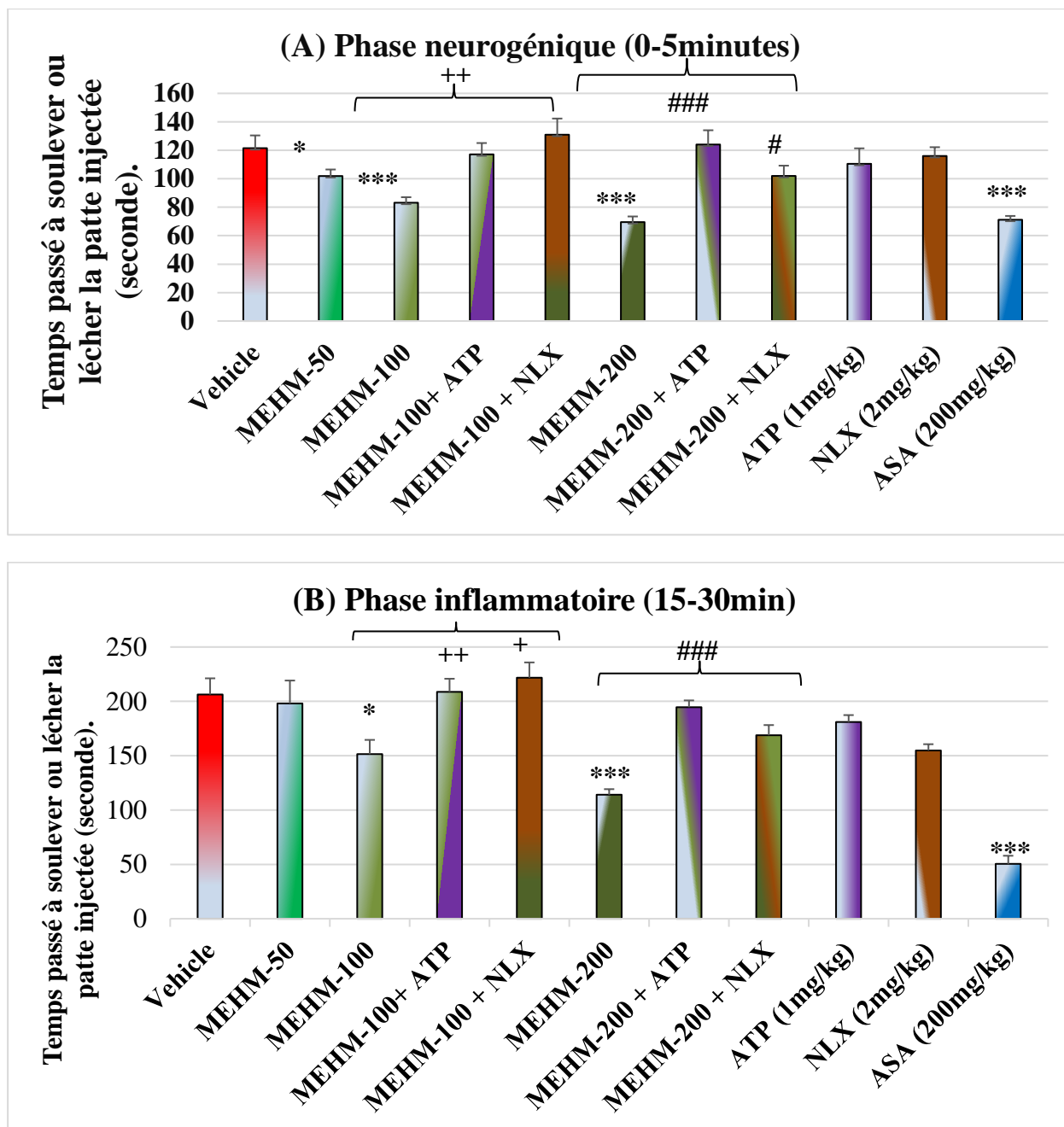


Figure 50 : Action de l'administration des différentes doses de l'extrait de *H. muticus* après traitement par l'atropine ou naloxone dans le test au formalin. Les symboles de significations utilisés : (***) $P \leq 0.001$; (**) $P < 0.01$; (*) $P < 0.05$ comparé au groupe témoin négatif. (++) $P < 0,01$;(+) $P < 0,05$ comparé au groupe traité par la dose de 100 mg/kg de MEHM. (###) $P \leq 0.001$; (##) $P < 0,01$ comparé au groupe traité par la dose de 200 mg/kg. ATP : groupe traité par l'atropine (1 mg/kg). NLX : groupe traité par la naloxone (2 mg/kg). ASA (200 mg/kg) : groupe traité par l'acétysalicylique (200 mg/kg).

4. Discussion

4.1 Discussion des résultats de la toxicité aiguë de MEHM

Le premier objectif de cette étude expérimentale est d'évaluer la toxicité aiguë par voie orale et par voie intrapéritonéale de l'extrait méthanolique des feuilles de *Hyoscyamus muticus* (MEHM). Les données de l'essai de toxicité aiguë par voie orale n'ont montré aucune mortalité, le suivi indiquait que l'extrait n'a produit aucun signe de toxicité grave chez les souris. La dose létale de l'extrait était supérieure à 2000 mg/kg, d'après le tableau de **Hodge et Sterner**, notre extrait pourrait être classé dans le cadre d'une substance faiblement toxique, car sa DL₅₀ orale aiguë était supérieure à 0,5 g/kg (**Hodge et Sterner., 1949**). L'effet observé pour notre extrait est comparable aux extraits des feuilles des espèces qui appartiennent au genre *Hyoscyamus*. En effet l'évaluation de toxicité aiguë des extraits de *Hyoscyamus niger* et *Hyoscyamus albus* n'entraînait pas de mortalité même à une dose supérieure à 2000 mg/kg et la DL₅₀ serait donc bien supérieure à la dose 2000 mg/kg (**Benhouda, 2014 ; Bourebaba et al., 2016**).

Au contraire, l'évaluation de la toxicité aiguë de l'extrait par voie intrapéritonéale, à différentes doses, cause des signes cliniques toxiques et de mortalité dans les lots traités. La mortalité chez les animaux traités augmente au fur et à mesure que la dose administrée augmente, ce qui indique qu'il y a donc un effet toxique dose dépendant. La plus forte dose tuant tous les animaux ou dose létale (DL₁₀₀) est de l'ordre de 1500 mg/kg ; la dose maximale qui ne tue aucun animal est 900 mg/kg. Selon l'échelle de **Hodge et Sterner (1943)**, la classification de la toxicité de MEHM est considérée légèrement toxique, car la valeur de DL₅₀ est comprise entre 101 et 1000 mg/kg (**Berezovskaya, 2003**). Les signes toxiques observés étaient identiques à ceux trouvés dans certains rapports cliniques de cas de surdosage par l'atropine et la scopolamine (**Kukula -Koch et al., 2017**). On savait que les alcaloïdes tropaniques comme la scopolamine, peuvent être rapidement absorbés par le tube digestif et affecter le système nerveux central grâce à la compétitivité des récepteurs muscariniques de l'acétylcholine (**Renner et al., 2005**). La présence d'alcaloïdes tropaniques dans l'extrait de *Hyoscyamus muticus* pourrait être responsable des effets périphériques tels que la dilatation des pupilles, la diminution de la motilité gastro-intestinale et la tachycardie (**Gilani et al., 2008**). En outre, ces molécules pourraient aussi affecter le système nerveux central et provoquer l'apparition d'une agitation, d'une

désorientation et d'hallucinations (**Beyer et al., 2009**). La scopolamine, un alcaloïde tropanique majoritaire dans les feuilles de cette plante, accompagné d'effets anticholinergiques possède une activité parasympatholytique et une biodisponibilité limitée en cas de l'administration par voie orale (**Renner et al., 2005**). Pour expliquer la différence des signes toxiques observés entre les deux voies d'administrations, on suggère, dans le cas d'ingestion orale, l'implication de la flore intestinale dans le tube digestif qui induit probablement des modifications structurales des composés de l'extrait, et donc la détoxification possible de ces métabolites. En revanche, l'administration intrapéritonéale de l'extrait provoque le passage direct des composés de l'extrait vers la circulation sanguine générale et produit des signes toxiques notables en cas de fortes doses (**Kohnen-Johannsen et Kyser, 2019**).

4.2 Discussion de l'activité analgésique de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* et les mécanismes impliqués

Un analgésique est une molécule qui permet le soulagement ou la suppression de la sensation douloureuse. Dans ce travail, plusieurs tests ont été réalisés afin d'évaluer l'effet analgésique de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* (MEHM). Dans le test de la plaque chauffante, l'extrait de la plante était capable d'augmenter significativement et d'une manière dose dépendante le temps de latence des animaux déposés sur la plaque. L'effet analgésique maximal calculé était obtenu après les 90 minutes suivant l'administration de la dose 200 mg/kg per os. Les analgésiques agissant par la voie centrale affectaient généralement la réactivité des animaux dans le test de la plaque chauffante, on peut dire alors que l'extrait contient au moins une molécule antinociceptive agissante par voie centrale (**Gholami et al., 2015 ; Bektas et Arslan, 2016**).

Pour les souris témoins positives, la morphine a augmenté le temps de latence dans le test de la plaque chauffante et a produit un pourcentage d'effet maximal possible plus important que les pourcentages obtenus chez les groupes traités par les autres doses. L'effet antinociceptif de la dose maximale de l'extrait (200mg/kg) était moins puissant mais possède un effet plus long que la morphine. Cette puissante molécule analgésique est couramment utilisée dans le traitement des douleurs aiguës et chroniques, qui pourrait agir via leur grande affinité aux récepteurs des opiacés de type kappa, delta et mu-opioïdes dans le système nerveux central et périphérique (**Murphy et al., 2020**). La morphine produisait une activité analgésique en raison de ses actions

à différents niveaux du système nerveux, notamment par l'inhibition de la libération de neurotransmetteurs au niveau de la moelle épinière (Chahl, 1996). Handal et ses collaborateurs (2012) montrent que l'injection de la morphine dans la cavité péritonéale des souris induisait une augmentation de la concentration de métabolite morphine-3-glucuronide (M3G) dans le sérum. Ce dernier atteint sa concentration maximale au bout d'une demi-heure après l'injection et disparaît complètement dans les quatre heures qui suivent l'injection intrapéritonéale (Handal et al., 2012). Ces résultats concordent avec notre constatation concernant le test de la plaque chauffante.

Le test au formol constituait le deuxième test pharmacologique utilisé pour mettre en évidence l'activité nociceptive de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus*. Ce test est couramment utilisé dans l'évaluation de la douleur périphérique et centrale chez les rongeurs. Nos résultats ont montré que MEHM était capable de réduire, d'une manière dose dépendante, la durée du léchage de la patte injectée dans les deux phases du test au formol. Cette inhibition était plus importante dans la première phase du test que dans la phase inflammatoire. Toutes les doses utilisées ont été capable de diminuer la sensibilité de l'animal à la douleur chimique provoquée par le formol dans les deux phases, à l'exception de la dose de 50 mg/kg qui ne produisait aucun effet significatif dans la phase inflammatoire. Pendant la première phase, l'efficacité de l'extrait à la 200 mg/kg était plus puissante que celle de l'acide acétylsalicylique (médicament analgésique de référence). Généralement, le test au formol est considéré parmi les tests largement utilisés et les plus fiables dans le dépistage de nouveaux médicaments susceptibles d'avoir une activité analgésique. La particularité de ce test réside dans leur capacité de distinguer entre la nociception périphérique et centrale chez les animaux (Hunskar and Hole, 1987). La réaction de l'animal pendant la phase neurogène du test au formol pourrait être expliqué par une stimulation chimique directe des neurones nociceptifs primaires par l'implication de canaux cationiques spécifiques appelés TRAI qui jouent un rôle important dans le processus de la douleur inflammatoire (McNamara et al., 2007). Alors que la deuxième phase ou la phase inflammatoire reflète la participation des médiateurs de l'inflammation tels que l'histamine, la sérotonine, la prostaglandine et la bradykinine (Hong et al., 1994 ; Sawynok et Liu, 2003). Il a été prouvé que les médicaments ayant des effets anti-inflammatoires étaient capables d'inhiber fortement la sensation de la douleur pendant la deuxième phase du test au formol, tandis que les médicaments ayant une action centrale produisaient un effet antinociceptif significatif dans les

deux phases du test au formol (**Hunnskaar et Hole, 1987**). D'après les résultats obtenus, l'extrait de *Hyoscyamus muticus* pourrait inhiber la douleur dans la phase neurogénique du test au formol renforçant ainsi l'hypothèse de la présence des composés actifs dans l'extrait qui pourraient agir comme des analgésiques centraux. De même, l'atténuation de la douleur dans la phase inflammatoire supporte la présence d'un effet sur les médiateurs périphériques. Par ailleurs, le groupe traité par l'ASA révèle une réduction importante de la durée de léchage de la patte injectée pendant les deux phases du test au formol. Cette réduction était plus remarquable dans la première phase que dans la deuxième phase. L'activité analgésique de l'acétylsalicylique pourrait expliquer par l'inhibition de la synthèse de la prostaglandine par la voie de l'acétylation irréversible du résidu sérine dans la chaîne enzymatique de la cyclo-oxygénase (**Vane et Botting, 2003 ; Abramson et Howard, 2012 ; Cadavid, 2017**).

L'évaluation de l'activité analgésique périphérique de l'extrait a été réalisée par la méthode de l'acide acétique ou test de contorsions abdominales. Ce test est le plus répandu dans l'exploration des molécules analgésiques et anti-inflammatoires susceptibles d'être efficaces dans le traitement des douleurs périphériques (**Ikeda, 2001**). L'injection abdominale de l'acide acétique provoquait une augmentation de la libération des médiateurs inflammatoires endogènes, notamment la prostaglandine E2 (PGE2), la prostaglandine PGF2 α et les lipoxygénases dans le liquide péritonéal stimulant ainsi les neurones nociceptifs (**Gupta, 2015**). Seule la dose 200 mg/kg a été capable de réduire significativement le nombre des contorsions abdominales. Cet effet pourrait être expliqué par l'inhibition des médiateurs inflammatoires ou par blocage des récepteurs impliqués dans l'effet anti-nociceptif périphérique (**Sdayria et al., 2018**). Les animaux traités par l'ASA montraient une réduction significative de nombre de contorsions réalisées, cette diminution confirme l'effet antinociceptif périphérique de l'ASA.

En raison de l'absence des recherches menées sur l'activité biologique de *Hyoscyamus muticus* dans la littérature, nous comparons nos résultats avec ceux obtenus avec des espèces végétales du même genre. À cet égard, l'activité antinociceptive des extraits méthanoliques et bruts de *Hyoscyamus niger* a été prouvée dans le test de l'injection de l'acide acétique. Tandis que l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus albus* pourrait diminuer, de manière significative, la sensation douloureuse chez les animaux pendant la phase inflammatoire du test au formol (**Benhouda et Yahia, 2014 ; Massinissa et al., 2014**). De même, l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus reticulatus* a également permis de réduire le temps de latence dans le test de la

plaque chauffante et diminuer le nombre des contorsions induites par l'acide acétique dans le test de contorsions abdominales après 30 minutes de l'administration de l'extrait (**Gawade, 2012**). En outre, l'extrait de *Hyoscyamus niger* a montré une activité anti-inflammatoire significative dans le test de l'œdème induit par la carragénine et le test de granulome des boulettes de coton (**Begum, 2010**). Ces résultats obtenus pour d'autres espèces de *Hyoscyamus* soutiennent fortement le possible effet antinociceptif de MEHM dans le soulagement de la douleur thermique et chimique chez la souris.

Pour confirmer l'hypothèse précédente sur l'effet central de MEHM, les animaux ont été prétraités par la naloxone, un antagoniste des opioïdes. Nos résultats indiquaient que les effets antinociceptifs de l'extrait et de la morphine pourraient tous deux être bloqués partiellement par l'antagoniste des récepteurs opioïdes, la naloxone. Ces observations nous permettent de dire qu'au moins une partie de l'effet antinociceptif observé implique la participation de système opioïdurgique soit aux niveaux centraux et/ou périphériques. Il a été noté que la naloxone est un antidote d'opioïdes, largement utilisée dans le traitement clinique de surdoses des opioïdes. L'atténuation de l'effet de la plante par le prétraitement de la naloxone suggère probablement que les feuilles de *H. muticus* pourrait renfermer des phytoconstituants ayant une forte activité modulatrice sur les voies de la douleur spinale et supraspinale par l'intermédiaire des récepteurs opioïdes. Des études antérieures indiquaient que les récepteurs des opioïdes étaient impliqués dans la voie de la douleur en diminuant la transduction du signal nociceptif vers les différents niveaux du système nerveux (**Waldhoer, 2004 ; Stein, 2016**). Ces récepteurs étaient largement exprimés dans les neurones centraux et périphériques (**Wang et al., 2018**). L'effet de MEHM semble être médié par une stimulation des récepteurs opioïdurgiques de manière similaire à celle observé pour l'extrait alcoolique de *Hyoscyamus niger* (**Wang et al., 2018**). Il est bien noté que les alcaloïdes d'origines végétales ont montré une activité analgésique significative antagonisée par la naloxone dans différents modèles de nociceptions, en particulier le test d'immersion de la queue, le test au formol et le test de contorsions abdominales (**Shoaib et al., 2016**).

D'autre part, le traitement préalable des animaux par l'atropine, un antagoniste non sélectif des récepteurs muscariniques, atténue de manière significative l'activité antinociceptive de l'extrait de *H. muticus* dans le test de la plaque chauffante et les deux phases du test au formol. Sur la base de ces observations, on peut supposer qu'il existe une relation étroite entre l'effet analgésique observé et la participation de certains récepteurs d'acétylcholine

appelés « récepteurs muscariniques de l'acétylcholine ». Le système cholinergique joue un rôle important dans la thérapie clinique de la douleur (**Jones et Dunlop, 2007**). En effet, les récepteurs muscariniques sont largement exprimés dans différents niveaux du système nerveux et participent largement dans de nombreuses voies physiologiques du corps humain, dont la transmission nociceptive (**Dussor et al., 2004 ; Chen, 2014 ; Naser et al., 2017 ; Radu et al., 2017**). L'activation directe des récepteurs muscariniques dans le cortex cingulaire antérieur du rat induisait un effet analgésique chez les animaux naïfs et que leur inhibition dans la moelle épinière pouvait être à l'origine d'une hypersensibilité nociceptive (**Zhuo et Gebhart, 1991 ; Koga et al., 2017**).

La propriété analgésique de l'extrait pourrait attribuer à la présence des dérivés des alcaloïdes présents dans la plante en particulier de type tropane. En effet, les feuilles de *Hyoscyamus muticus* contiennent une grande concentration d'alcaloïdes tropaniques qui agissent en se liant aux récepteurs muscariniques de l'acétylcholine, affectant ainsi la transmission du signal nociceptif dans les neurones périphériques et centraux. Une étude montre que les alcaloïdes, de type tropane, de l'espèce *Atropa belladone* possédaient une activité analgésique périphérique puissante (**AL-Aschaal et al., 2013**).

Les résultats de criblage phytochimique précédents ont indiqué que MEHM contient une forte teneur en phénols et flavonoïdes. La rutine, un diglycoside de la quercétine, est l'un des composés les plus importants dans l'extrait, connue pour son rôle important dans la modulation de la douleur. Des études antérieures montraient que l'injection intrapéritonéale de rutine chez les souris produisait une activité analgésique significative dans le test de la douleur induite par l'injection du glutamate. Cette activité analgésique observée est la conséquence de l'action de la rutine sur les récepteurs opioïdes au niveau central et périphérique (**Lapa et al., 2009 ; Selvaraj et al., 2014**). L'action périphérique de la rutine pourrait expliquer par son pouvoir à réduire la production des médiateurs pro-inflammatoires et d'inhiber la neuroinflammation (**Kwon et al., 2005 ; Tian et al., 2016**). Par ailleurs, la quercétine est parmi les principaux métabolites de l'extrait de *H. muticus* qui pourrait avoir un effet antinociceptif. Ce composé peut avoir un effet étonnant sur la sensation de la douleur par l'intermédiaire des systèmes sérotonine et GABAergique (**Filho et al., 2008**).

L'évaluation de l'activité analgésique, montre que MEHM induit une inhibition de la sensation douloureuse. Une administration préalable d'Atropine et naloxone révèle l'implication des récepteurs opioïdiques et muscariniques dans l'effet antinociceptif de l'extrait.

5. Conclusion

Cette présente étude avait pour but d'étudier la toxicité et l'effet de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* sur la sensation douloureuse en utilisant plusieurs tests de références. Les études toxicologiques des extraits à bases des plantes restent toujours un outil essentiel dans la prévention de la santé publique. L'administration par voie orale de MEHM n'a provoqué aucune toxicité chez les animaux tandis que l'administration de l'extrait par voie intrapéritonéale a entraîné une mortalité et des signes toxiques à des fortes doses. D'après ces données toxicologiques l'utilisation de *Hyoscyamus muticus* devrait être utilisé avec précaution et à faible doses pour éviter toute intoxication. Au Maroc, les intoxications par les plantes sont très fréquentes, les données épidémiologiques récoltées durant la période entre 1980 et 2008 montrent que ces intoxications constituaient environ 5.1 % des intoxications générales (**Rebgui et al., 2013**).

D'autre part l'extrait de cette plante était capable d'atténuer significativement la douleur chimique et thermique, de manière dose dépendante, dans différents tests pharmacologiques utilisés dans cette étude. L'effet analgésique observé est probablement dû à l'implication du système opioïdérique et muscarinique. Le traitement préalable par l'atropine et la naloxone indique la participation des récepteurs muscariniques et opioïdériques. Les propriétés analgésiques de l'extrait sont probablement dues à la présence de flavonoïdes et des alcaloïdes. D'autres études sont envisagées pour découvrir les molécules responsables des propriétés analgésiques observés dans les différents tests nociceptifs. Cette découverte nous montre que l'extrait de *Hyoscyamus muticus* est une source importante en substances qui agissent par différentes voies pour réduire la douleur. Ce travail mériterait d'être valorisé pour approfondir les différents points soulevés pour la première fois pour cette espèce. Il serait intéressant de tester notre extrait cliniquement voire d'utiliser d'autres modèles nociceptifs pour vérifier cette activité relevée dans cette présente étude.

Quatrième partie

**Etude de l'effet de l'extrait de
Hyoscyamus muticus sur le comportement**

Quatrième partie : étude de l'activité de *H. muticus* sur le comportement

Chapitre 1 : Généralités sur les comportements étudiés

1. Généralités sur la dépression

1.1 Définition

La dépression est un trouble psychiatrique chronique répandu qui nuit à la vie sociale et au rendement au travail. Elle affecte l'individu et son entourage, et elle représente également un fardeau social et économique. A l'échelle mondiale, la dépression touche environ 300 millions de personne, elle deviendra la deuxième maladie la plus importante dans le monde (OMS, 2020). Cette maladie peut entraîner une grande souffrance et altère la vie sociale, professionnelle et familiale de la personne touchée. Dans certains cas grave, la dépression peut conduire au suicide, selon l'OMS 800000 personnes meurent par suicide chaque année et que le suicide constitue la quatrième cause de décès chez les tranches d'âge entre 15 et 29 ans (OMS, 2020). Les troubles dépressifs constituent le premier facteur de morbidité et d'incapacité dans le monde. Chaque année l'économie mondiale perte d'environ 1000 milliard de dollars grâce aux troubles mentaux comme la dépression et l'anxiété (OMS, 2016). Ces troubles se caractérisent par la présence de plusieurs symptômes suivants : humeur dépressive, perte d'intérêt ou de plaisir, perte ou gain de poids, perte ou augmentation de l'appétit, insomnie ou hypersomnie et apparition de sentiment de désespoir. Les idées suicidaires et les tentatives de suicide sont parmi les plus dangereux symptômes liés à la dépression (Zuckerman et al., 1989 ; Ohayon, 2004). Par ailleurs, la dépression peut causer des maladies physiologiques en particulier le diabète, l'obésité, les maladies cardiovasculaires, augmentation des risques d'accidents vasculaires cérébraux, les maladies pulmonaires et le cancer (Bisschop et al., 2004 ; Goodwin, 2006 ; Del Rocío Sevilla-González et al., 2017 ; Barry et al., 2020). Il est bien connu que certains types de cancers comme le cancer du pancréas et cancer du sein sont associés à la dépression (Szabo et Nemeroff, 2015). De plus, la dépression conduit fréquemment la personne à négliger sa santé et à adopter une mauvaise hygiène de vie notamment les mauvaises habitudes alimentaires et la consommation de trop d'alcool et les psychotropes (Gorfinkel et al., 2020 ; Bertrand et al., 2020).

1.2 Les facteurs en cause

La dépression est une maladie mentale associée à l'interaction de plusieurs facteurs psychologiques, sociaux et biologiques qui comprennent les influences génétiques (**Kashani et al., 1981 ; Pitchot et al., 2008**). D'autres facteurs peuvent déclencher le trouble dépressif notamment la suractivité de l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénal. Au regard des études actuelles, il semble que les principales voies de neurotransmission altérées dans les troubles mentaux sont les voies sérotoninergiques, dopaminergiques, glutamatergiques et GABAergiques (**Tan et al., 2020**).

Des études récentes ont démontré l'implication des défauts de neurotransmission dopaminergiques, cholinergiques, GABAergiques et glutaminergiques dans le déclenchement de la dépression (**Niederhoffer et al., 2016**). En outre, des changements structuraux et fonctionnels ont été observés chez les sujets souffrant de dépression, notamment la baisse du volume du cortex frontal (**Kandilarova et al., 2019**). Par ailleurs, la dépression peut être causée par l'impact de stressseurs dans l'environnement tels que négligence, jugement, fragilité de la personnalité, manque de confiance en soi, surprotection, l'abus et la consommation fréquente de cannabis chez les jeunes adultes (**Kessler et Magee, 1993 ; Hayatbakhsh et al., 2007**).

1.3 Diagnostic de la dépression

Pour diagnostiquer les symptômes de la dépression, plusieurs biomarqueurs physiologiques ont été utilisés ; on peut citer ici la mesure des niveaux des monoamines (sérotonine, noradrénaline et la dopamine), le facteur de libération de la corticotrophine, le cortisol et l'hormone adrénocorticotrophine (**Rabiei Z et Rabiei S, 2017**).

1.4 Les structures cérébrales impliquées dans la dépression

Les nouvelles données de neuroimagerie révèlent l'implication des différentes régions et de réseaux dans la dépression ce qui reflète la complexité et la diversité des troubles dépressifs. Les analyses de ces données ont permis la mise en évidence de plusieurs structures cérébrales impliquées dans la dépression par exemple le cortex frontal et préfrontal, le cortex cingulaire antérieur, l'amygdale et l'hippocampe (**Yroni, 2018**).

1.4.1 Le cortex frontal et préfrontal

Le cortex préfrontal est la partie antérieure du lobe frontal, située en avant des régions prémotrices. Cette région est le siège de différentes fonctions cognitives dites supérieures (notamment la mémoire de travail, le raisonnement, et plus généralement les fonctions exécutives) (**Hare et Duman, 2020 ; Pizzagalli et Roberts, 2022**). Une diminution du volume du cortex préfrontal dans la dépression majeure a été de nombreuses fois retrouvées.

1.4.2 Le cortex cingulaire antérieur

Le cortex cingulaire antérieur (CCA) est la partie frontale du cortex cingulaire. Cette région est située au centre d'un réseau permettant l'échange d'informations cognitives, motrices, limbiques et viscérales (**Fillinger, 2017**). Le CCA joue des rôles importants dans la détection des erreurs et la gestion des conflits lors de la planification d'une action nerveuse donnée. Les chercheurs montrent qu'une hyperactivité de cette région corticale est essentielle à l'apparition des symptômes de la dépression principalement les émotions négatives et le manque de plaisir (**Fillinger, 2017**). C'est l'hyperactivité des neurones plus précisément situés dans les aires 24a et 24b du cortex cingulaire antérieur qui conduit à des symptômes apparentés à la dépression chez la souris (**Sellmeijer et al., 2018**).

1.4.3 L'amygdale

Le complexe amygdalien ou amygdale est une structure du lobe temporal impliquée dans l'attribution d'une valeur émotionnelle aux stimulations environnementales. Cette structure cérébrale bilatérale située en profondeur, dans la région antéoinférieure du lobe temporal. Elle reçoit de nombreuses projections, principalement des régions sensorielles du thalamus et du cortex, mais aussi de plusieurs autres structures comme l'hippocampe et le cortex préfrontal. L'amygdale intervient dans la formation de la mémoire émotionnelle et la récupération du souvenir émotionnel (**Yroni, 2018**). Elle joue un rôle dans la gestion des émotions, de l'anxiété et des réactions de peur. Des études antérieures rapportent une augmentation du volume de l'amygdale droite, d'autres montrent une augmentation bilatérale lors du premier épisode dépressif ou encore une perte de l'asymétrie physiologique. D'autres études de neuroimageries

ont montré un réseau neuronal qui se projette sur l'amygdale chez les sujets dépressifs (**Bediou et al., 2009**).

1.4.4 L'hippocampe

L'hippocampe est une structure bilatérale qui fait partie du système limbique. Il s'agit d'une structure corticale ancienne repliée sur elle-même et située dans la face médiane du lobe temporal. Elle joue un rôle dans le contrôle de l'humeur, la mémorisation (un rôle primordial dans la mémoire épisodique ou mémoire des événements personnels), la concentration et l'acquisition des connaissances (**Bohler, 2021**). Un grand nombre de travaux d'imagerie montrent une diminution du volume de l'hippocampe (pouvant aller jusqu'à 19 %) chez les patients déprimés. Cette atrophie est corrélée, indépendamment de l'âge, à la durée totale des phases dépressives et semble s'aggraver avec la répétition des épisodes (**Dayer, 2003 ; Nkodo et Desmidt, 2018**).

1.5 Traitement de la dépression

1.5.1 Traitement pharmacologique

Le traitement pharmacologique de la dépression par des molécules dites « antidépresseurs » remonte aux années 1950 avec la découverte des antidépresseurs tricycliques (ATC) et les inhibiteurs des monoamines-oxydases (IMAO). D'autres molécules ont été utilisées dans le traitement de la dépression. Par exemple, les inhibiteurs de recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSN), agissent en augmentant les taux de la sérotonine (5-HT) et d'épinéphrine dans les fentes synaptiques au niveau central. Toutefois, l'utilisation des antidépresseurs est limitée à cause de leurs effets secondaires défavorables ainsi qu'ils possèdent une toxicité élevée en cas de surdose (**Santarsieri et Schwartz, 2015**). Par ailleurs, l'utilisation des ISRS est devenue très répandue dans la thérapie contre la dépression (**Sauvaget et al., 2021**). Ces molécules sont capables d'augmenter les niveaux disponibles de 5-HT par le blocage de la recapture des 5-HT dans les synapses (**Figure 51**). Le mécanisme d'action central des antidépresseurs est lié aux modifications que ceux-ci provoquent au sein des systèmes noradrénergique et sérotoninergique (**Lhorca et al., 1993**). En outre, les inhibiteurs de la recapture de la norépinephrine sont utilisés dans le traitement de la dépression, dans ce cas

l'inhibition de la dépression est attribuée aux récepteurs adrénergiques α_2 (Millan et al., 2001). Récemment, plusieurs médicaments sont disponibles pour le traitement du trouble dépressif majeur (MDD) : le bupropion, la trazodone, la mirtazapine et la vilazodone. Ces antidépresseurs n'appartiennent pas à l'une des classes précédemment présentées. Le bupropion a été initialement utilisés comme inhibiteur sélectif de la recapture neuronale de la noradrénaline et de la dopamine. C'est le seul antidépresseur qui n'a pas d'activité appréciable sur les concentrations de sérotonine au niveau central (Schwasinger-Schmidt et Macaluso, 2019). La mirtazapine est un antidépresseur antagoniste α_2 présynaptique d'action centrale, qui augmente la neurotransmission noradrénergique et sérotoninergique. Elle intervient par blocage des récepteurs 5-HT₁, 5-HT₂ et 5-HT₃ (Furukawa et al., 2019). La vilazodone utilisée récemment dans le traitement de MDD semble intervenir comme un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine et se lie, en tant qu'agoniste partiel, avec une grande affinité aux récepteurs 5-HT_{1A} (Stuivenga et al., 2019 ; Schwasinger-Schmidt et Macaluso, 2019). Ce médicament n'a aucun effet significatif sur le recaptage de la norépinéphrine ou de la dopamine dans le cerveau. Le trazodone est un antidépresseur qui possède une activité antagoniste des récepteurs 5-HT_{2A} et 5-HT_{2C}. Cependant, il possède un effet inhibiteur sur le recaptage de la sérotonine (Ghnabari et al., 2010 ; Schwasinger-Schmidt et Macaluso, 2019).

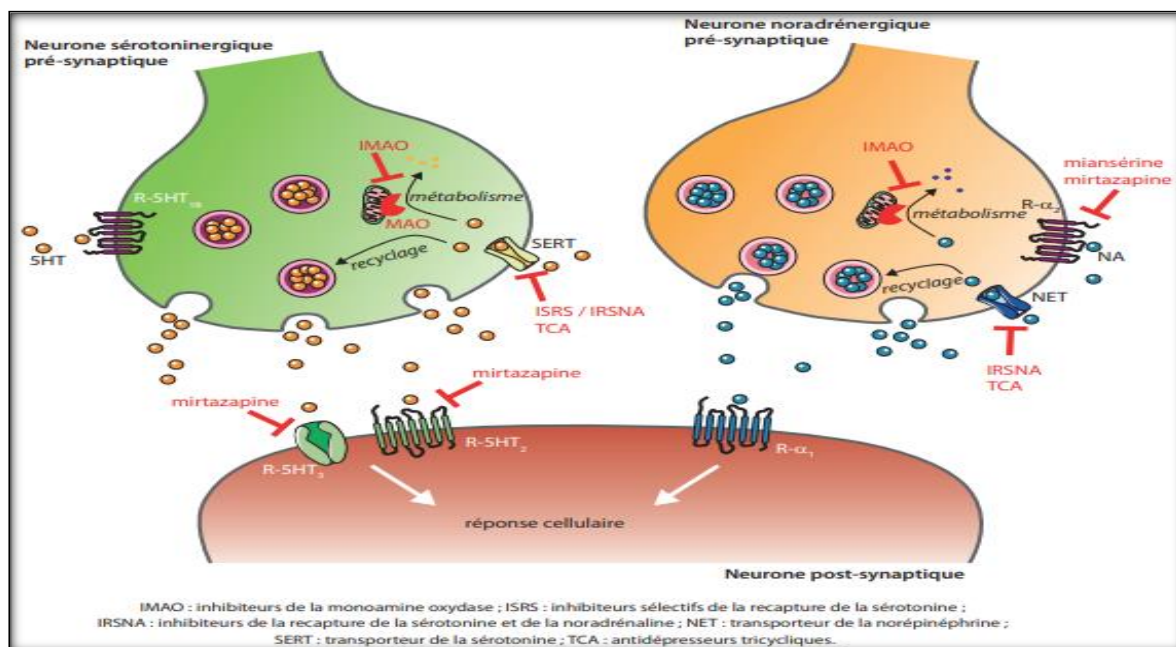


Figure 51 : Mode d'action des antidépresseurs : Exemple de rôle inhibiteur des antidépresseurs dans la transmission synaptique de la noradrénaline et la sérotonine (Niederhoffer et al., 2016).

1.5.2 Rôle de la phytothérapie dans le traitement de la dépression

Au cours de la dernière décennie, l'utilisation de la phytothérapie dans le traitement des troubles psychologiques est devenue courante (Sarris, 2017). De nombreuses études cliniques montrent que certains extraits de plantes présentent un intérêt thérapeutique dans le traitement de la dépression mineur ou épisode dépressif légère avec moins d'effets secondaires. Dans de sens l'activité antidépressive de ces plantes peuvent être liée à l'augmentation du niveau de 5-HT dans le cerveau via l'inhibition du recaptage des monoamines (Gu et al., 2012 ; Teixeira et al., 2013 ; Zheng et al., 2013), la modulation du système noradrénergique (Singh et al., 2009), l'augmentation de la neurotransmission catécholaminergique et sérotoninergique (Amoanteg et al., 2018), l'augmentation de l'expression des protéines dans l'hippocampe (Ghasemie et al., 2015) et la modulation du neurotransmetteur monoamine (Liang et al., 2016). La relation entre la dépression et les antioxydants est bien confirmée. En effet, la dépression peut induire une régulation ascendante de l'inflammation systémique indiquée par une production accrue de cytokines proinflammatoires et de biomarqueurs de stress oxydants (Tayefi et al., 2017). Compte tenu de la relation étroite entre l'inflammation et le stress oxydatif, et du fait que la dépression est liée à l'inflammation (Duvis et al., 2013). Par ailleurs, l'activité antioxydante de phytoconstituants semble être la voie d'action d'un certain nombre des molécules antidépressives d'origines végétales. Les métabolites secondaires comme les caroténoïdes, les polyphénols et les flavonoïdes sont capable de neutraliser les radicaux libres dans les cellules.

2. Généralité sur l'anxiété

2.1 Définition

Le mot «anxiété» provient du latin «anxietas» qui veut dire «disposition à l'inquiétude». C'est une émotion souvent ressentie comme désagréable qui correspond à l'attente plus ou moins conscience d'un danger ou d'un problème à venir. L'anxiété est un phénomène normal présent chez tous les individus. L'anxiété est un état émotionnel, réactionnel et généralisé qui se traduit par des réactions physiologiques (accroissement de la pression artérielle et tachycardie) et comportementales (augmentation de la vigilance et des réponses d'évitement). L'anxiété peut s'avérer utile quand elle attire l'attention sur des dangers réels ou des situations à risque. Dans certains cas, l'anxiété peut prendre un caractère pathogène et

chronique : on parlera alors de troubles anxieux qui touchent 28% de la population mondiale. Ces troubles sont très hétérogènes, certains étant caractérisés principalement par l'anxiété, d'autres sont caractérisés par des pensées obsessionnelles et d'autres par la sensation de la peur (phobie, troubles de panique et stress post traumatique) (Craske et Stein, 2016). A cause de sa complexité clinique, psychologique et neurophysiologique, les troubles de l'anxiété sont souvent non reconnues et mal diagnostiqués au premier point de contact avec les prestataires de soins de santé (Starcevic et Castle, 2016).

2.2 Les différents types de troubles anxieux

Les troubles d'anxiété peuvent être classés en plusieurs grandes catégories : le trouble anxieux généralisé (TAG), les troubles anxieux phobiques (agoraphobie), le trouble panique, la phobie sociale et les phobies spécifiques. Cette classification est basée sur les symptômes, la durée de l'atteinte et la sensibilité aux traitements (Galanter et Kleber, 1994 ; Brown et Barlow, 2005).

2.2.1 Le trouble anxieux généralisé (TAG)

Dans le cas du trouble anxieux généralisé ou TAG, les symptômes sont présents la plupart du temps sur une période d'au moins deux semaines et plus. La prévalence du TAG est d'environ 2% de la population mondiale avec une abondance fréquente chez les femmes. Le TAG se caractérise principalement par une inquiétude marquée et des soucis excessifs qui concernent différents domaines, tels que le travail, la famille et les résultats scolaires que l'individu trouve difficile à contrôler depuis au moins six mois (Craske et Stein, 2016). Ce type d'anxiété est caractérisé par les symptômes suivants : l'irritabilité, des difficultés de concentration, perturbation du sommeil et fatigabilité (Craske et Stein, 2016).

2.2.2 Les troubles de panique

Ils se caractérisent par des attaques de panique récurrentes survenant de façon inattendue. Ces troubles prennent la forme d'un profond sentiment de peur ou de malaise intense, accompagné de symptômes physiques, tels que palpitations, douleur dans la poitrine, troubles respiratoires, vertiges et transpiration. Généralement, les attaques de panique n'entraînent pas

nécessairement un trouble panique et peuvent apparaître dans le contexte de divers autres troubles anxieux (Starcevic et Castle, 2016). Les troubles paniques touchent environ 0,8% de la population mondiale. Le diagnostic de ces troubles anxieux est basé sur le nombre d'attaques de panique qui se déclenchent sur une période d'un mois (Caldirola et al., 2018).

2.2.3 Les troubles obsessionnels compulsifs (TOC)

Le TOC est un trouble anxieux caractérisé par la présence des pensées, des désirs et des images récurrentes qui apparaissent de manière répétitive et qui sont vécues comme inappropriées et désagréables. De manière générale, les personnes atteintes de TOC souffrent de plusieurs types d'obsessions ou compulsions. L'état le plus couramment associé au TOC semble être les troubles de l'humeur.

2.2.4 Les phobies spécifiques

Une phobie spécifique est une peur persistante et intense déclenchée par la présence ou l'anticipation de la confrontation à un objet (animaux, sang par exemple) ou une situation particulière (la phobie de la hauteur). L'exposition à l'objet ou la situation déclenche une réaction anxieuse pouvant atteindre les critères d'une attaque de panique. Le patient est parfaitement conscient du caractère excessif ou irrationnel de sa peur. Les situations induisant la phobie entraînent soit des évitements soit une anxiété importante lors de la confrontation. La prévalence de cette phobie est plus fréquente chez les femmes (23,2%) et (10,5%) chez l'homme (Chapelle, 2018).

2.2.5 Le trouble d'anxiété sociale (TAS) ou la phobie sociale

Selon l'association américaine de psychiatrie (APA), la phobie sociale est définie comme une peur marquée et persistante d'une ou plusieurs situations sociales ou de performance dans lesquelles l'individu est exposé à des personnes non familières ou à un éventuel regard des autres (Pelissolo, 2016). Elle est caractérisée par des crises d'anxiété qui surviennent spécifiquement dans les lieux publics. La phobie sociale est un des troubles anxieux les plus fréquents puisqu'elle touche 3% à 13 % de la population générale, en incluant les personnes timides sans

toutefois remplir les critères cette pathologie, la prévalence serait de 20%. Cette anxiété peut se manifester par les symptômes suivants : transpiration, gorge sèche, palpitations, rougissement, douleur de la poitrine, sensation de chaud ou de froid et tremblements des mains ou des jambes. Dans certains cas extrêmes le trouble d'anxiété sociale peut se déboucher sur une attaque de panique.

2.3 L'anxiété chez les animaux

L'anxiété est un état mental qui est difficile à évaluer ou à quantifier. Plusieurs paramètres physiologiques capables de renseigner sur l'état mental de l'animal ont été mis en évidence. Parmi ces paramètres (la pression artérielle, le rythme cardiaque et les sécrétions endocrines), mais aussi des paramètres comportementaux tels que l'évitement, la fuite ou l'immobilité (**Sartori et al., 2011**).

Les tests utilisés pour évaluer l'état anxieux chez les rongeurs (cas des rats) sont classés en deux catégories :

- Les tests non conditionnés qui sont basés sur des aversions naturelles de l'animal : test de l'Open Field ; le test de la boîte claire/obscur... (**Sartori et al., 2011**).
- Les tests conditionnés qui sont basés sur des aversions apprises (tests basés sur le conflit comme le test de Geller-Seifter, le test de Vogel.... (**Sartori et al., 2011**).

2.4 Le support neuroanatomique de l'anxiété

La compréhension neuroanatomique et neurophysiologique de l'anxiété est très complexe. La connaissance des circuits cérébraux et les neurotransmetteurs impliqués dans les manifestations de l'anxiété a fait de grand progrès depuis quelques années. L'utilisation des modèles animaux permettent d'explorer certains mécanismes neuronaux sous tendant l'expression des émotions négatives associées aux troubles de l'anxiété. Ces sentiments impliquent le cortex préfrontal, le système limbique et leurs interactions. Des études montrent que la coordination pathologique des activités préfronto-amygdaliennes, sous forme d'oscillations de réseaux neuronaux, favorise l'expression de la peur chez les animaux (**Bienvenu et al., 2018**).

Chez l'Homme les études d'imagerie anatomique par IRM (technique de résonance magnétique nucléaire) et d'imagerie fonctionnelle (tomographie) nous renseignent sur la genèse des troubles anxieux. Ces études montrent la participation de l'amygdale qui joue un rôle essentiel dans la gestion de nos émotions notamment nos réactions de peur et d'anxiété. Cette structure possède de nombreuses connexions avec les structures suivantes : le cortex, le thalamus, d'autres structures limbiques et le locus coeruleus (**Bourin, 2013**). L'amygdale a également intervenu dans la reconnaissance des émotions. L'organisation de l'état anxieux se fait en trois phases (**Etkin et al., 2010**) :

1° - phase I : Elle se caractérise par l'identification des stimuli et la production de l'état émotionnel. Cette étape est sous contrôle des régions limbiques (amygdale, l'insula, hypothalamus et la substance grise périaqueducule). Ces régions détectent et initient des réponses physiologiques et comportementales associées à l'état anxieux.

2° - phase II : Elle correspond à une phase d'évaluation des stimuli avec attribution consciente ou inconsciente d'une valeur émotionnelle positive ou négative. Elle est contrôlée de la partie dorsale du cortex préfrontal.

3° - phase III : c'est une phase de régulation de l'état affectif, du comportement émotionnel et des réponses générées par les régions limbiques. Elle est sous le contrôle de la partie ventrale du cortex préfrontal médian ainsi que des parties rostrales et subgénéales du cortex cingulaire.

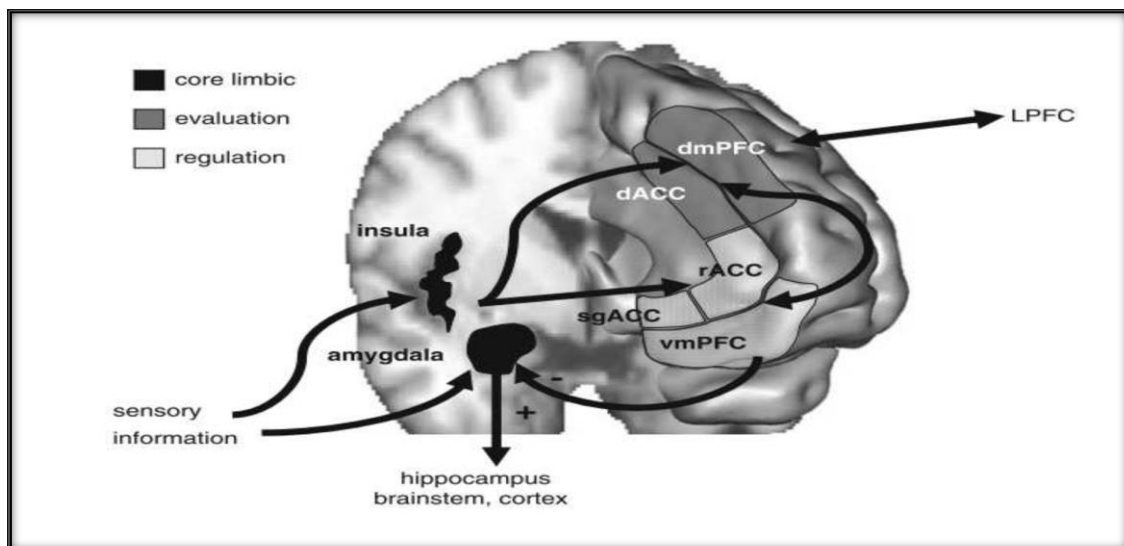


Figure 52 : Les principales structures cérébrales impliquées dans l'anxiété (**Etkin, 2010**).

2.5 Traitement de troubles anxieux généralisé

La prise en charge du trouble d'anxiété repose sur deux approches : une approche psychothérapeutique et une autre pharmacologique. Dans le traitement de troubles anxieux il faut distinguer entre les traitements de fond et ceux de crise. Le traitement de première intention fait appel à l'utilisation d'un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine (ISRS) ou un inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSNA), ce traitement doit être poursuivi au moins pendant douze mois (**Guerriaux, 2019**). Les ISRS et IRSNA sont les mieux tolérés que les antidépresseurs d'anciennes générations, comme la clomipramine prescrite principalement pour la prévention des attaques de panique avec ou sans agoraphobie. L'utilisation de la clomipramine est associée aux différents effets indésirables notamment anticholinergiques (bouche sèche, constipation, rétention urinaire, etc.). Les antidépresseurs comme la duloxétine, paroxétine, setraline, venlafaxine et escitalopram ont été prescrits dans le traitement de fond de troubles anxieux notamment le TAG, la prévention des attaques paniques et le traitement de l'état de stress post traumatique (**Guerriaux, 2019**). En outre, les benzodiazépines comme diazépam, alprazolam, bromazépam, clonazépam, lorazépam, midazolam, oxazépam, nordiazépam et nitrazépam sont couramment utilisées dans le traitement de la crise. Elles provoquent une lyse de en agissant sur les récepteurs GABA responsable de l'inhibition pré et postsynaptique.

3. Généralité sur l'activité locomotrice

3.1 Définition et classification

Les animaux ont une capacité de déplacement grâce à un système locomoteur. Tous les actes moteurs nécessitent une commande d'un centre nerveux et l'activation de plusieurs muscles (effecteurs des signaux moteurs viennent des centres nerveux). Les mouvements sont provoqués par la contraction d'un muscle ou de groupes musculaires. Ils sont toujours intégrés dans une action orientée vers un but. On peut classer les mouvements en deux types :

- ✚ Les mouvements involontaires (contrôle spinal) : réflexe, posture-équilibre.
- ✚ Les mouvements volontaires (contrôle central) : la marche par exemple (**Bioulac et coll, 2004**).

3.2 Les structures impliquées dans la motricité

3.2.1 Le cortex moteur

Il se compose du cortex moteur primaire, du cortex prémoteur, de l'aire motrice supplémentaire. Le rôle majeur du cortex réside dans la planification, la commande et le séquençage temporel des mouvements volontaires.

3.2.2 Le tronc cérébral

Son rôle fondamental est la régulation du tonus musculaire, et l'orientation des yeux, de la tête et du corps par apport aux infiniment sensorielles vestibulaires, somatiques, auditives et visuelles.

3.2.3 Le cervelet

Il intervient dans la détection des « erreurs motrices » et réduit l'écart à court et à long terme « phénomène d'apprentissage moteur ».

3.2.4 Les ganglions de la base (GBs)

Ils sont appelés aussi noyaux gris centraux. Ils forment un ensemble de structures sous-corticales au sein de diencephale. Ils interviennent dans la suppression des mouvements non désirés et la préparation des neurones moteurs centraux en vue du démarrage des mouvements. Ils s'inscrivent dans le système extrapyramidal [télékinesie] lié à la motricité semi volontaire ou automatique. Les GBs sont impliqués dans la régulation du mouvement volontaire.

3.2.5 La moelle épinière

La moelle épinière fait partie du système nerveux central. Elle est à la fois un centre de relais pour les commandes en provenance des centres supérieurs et également un centre d'intégration des informations sensorielles. Les neurones de la moelle comprennent d'une part les motoneurones alpha, dont les axones quittent le tronc cérébral et la moelle épinière pour aller

innervent respectivement les muscles squelettiques de la tête et du corps. D'autre part, les neurones des circuits locaux, qui constituent la source principale des contacts synaptiques que reçoivent les motoneurones α . Toutes les commandes motrices, qu'elles soient réflexes ou volontaires, sont en dernier ressort relayées vers les muscles par l'activité des motoneurones α (**Grillner., 1973 ; Bioulac et al., 2004**)

3.2.6 Le thalamus

Le thalamus joue un rôle important dans la distribution des informations sensorimotrices entre la moelle, le cervelet, les ganglions de la base et les aires corticales à fonctions motrices (**Bioulac et al., 2004**).

3.2.7 Le muscle

Ce sont les organes chargés d'effectuer le transfert entre une activité nerveuse (électrique et chimique) et une énergie mécanique capable d'assurer le déplacement des différents segments corporels. Cela est dû à l'existence de structure spécialisée et les fibres musculaires. Les protéines contractiles (actines et myosines) vont glisser les unes par rapport aux autres grâce à l'établissement périodique de liaisons en présence de calcium et de l'ATP. L'association en série de milliers de sarcomères permet un déplacement de plusieurs centimètres (**Bioulac et al., 2004**).

3.3 Le contrôle de l'activité des motoneurones

Il y a trois types d'influx nerveux qui contrôlent l'activité des motoneurones :

- ✚ Les interneurones de la moelle épinière, qui reçoivent les informations sensorielles en provenance du corps et qui régulent l'activité des neurones moteurs (réflexes spinaux).
- ✚ Les influx venant du cortex moteur primaire sont issus des neurones pyramidaux dans le cortex moteur primaire (faisceau corticospinal ou faisceau pyramidal).
- ✚ Les influx venant du tronc cérébral (système extrapyramidal) : c'est un système multi neuronal comportant un grand nombre de synapses dans plusieurs régions de l'encéphale (cervelet et GB). Ces voies convergent finalement dans le tronc cérébral au niveau de la formation réticulaire (Figure 53).

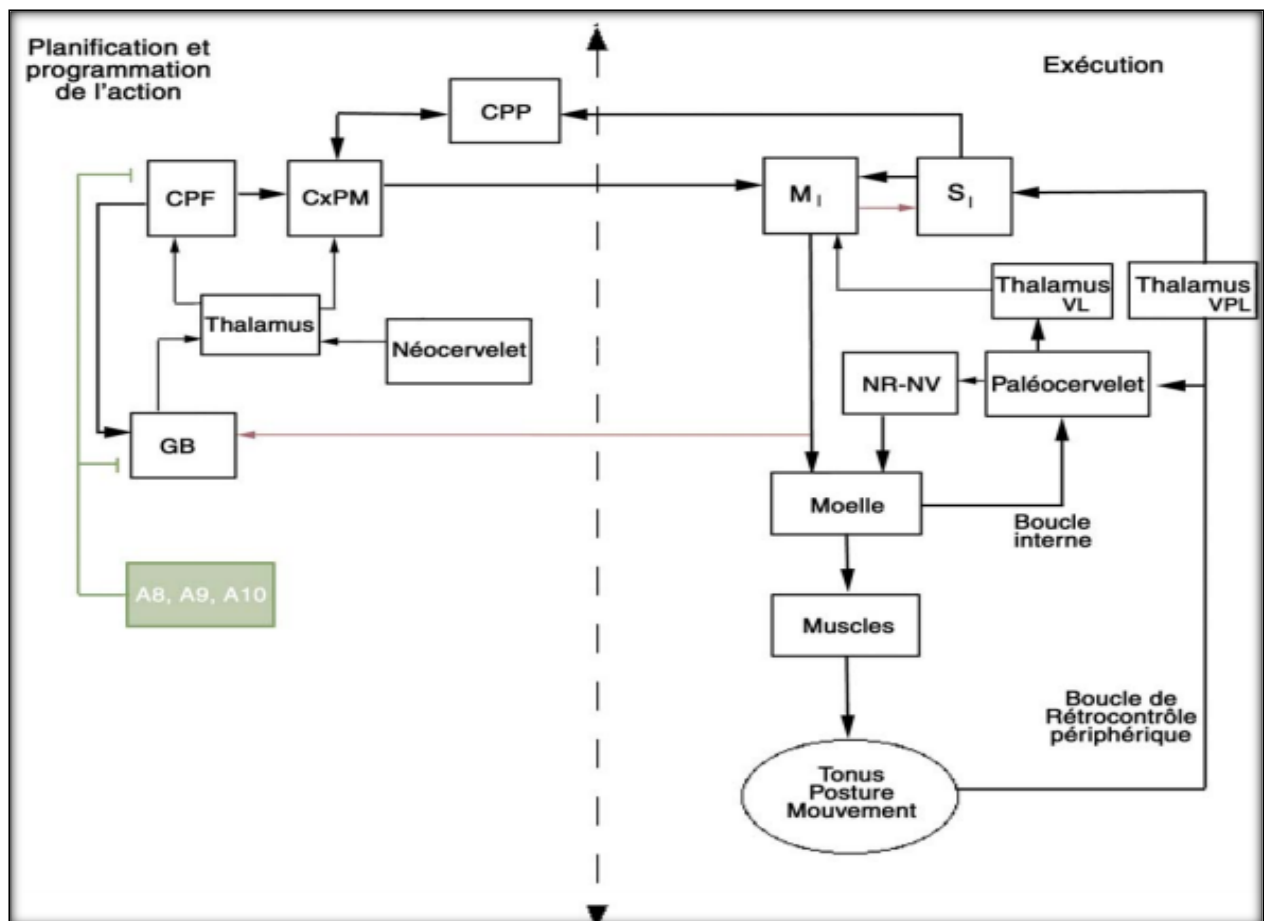


Figure 53 : Schéma de l'organisation centrale du mouvement : deux ensembles structuraux interconnectés assurent la planification et la programmation d'une part et l'exécution d'autre part. CPF : Cortex préfrontal élargi ; CPP : cortex pariéto-frontal ; CxPM : Aires prémotrices et motrice supplémentaire ; M₁ : cortex moteur ; GB : ganglions de la base ; A8, A9, A10 : les systèmes dopaminergiques mésencéphaliques ; NR : noyau rouge ; NV : noyau vestibulaire. D'après **Bioulac et al., (2004)**.

Chapitre 2 : Etude de l'effet de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* sur le comportement des souris

1. Introduction

Les troubles mentaux comme la dépression et l'anxiété constituent des enjeux majeurs de santé globale. La dépression est devenue l'une des principales maladies mondiales ; plus de 300 millions de personnes dans le monde souffrant de dépression (OMS, 2017). Selon une autre étude réalisée en 2018, incluant plus d'un million de participants de différents pays du monde, la prévalence ponctuelle de la dépression était évaluée à 12,9% (Fond et al., 2019). Au Maroc, la prévalence des troubles dépressifs et anxieux au sein de la population générale marocaine est similaire aux pourcentages obtenus dans les populations occidentales ; sa fourchette montre qu'environ 25,5 % de la population souffre au moins d'un des troubles anxieux actuels notamment le trouble panique, la phobie, la phobie sociale, le trouble obsessionnel compulsif, le trouble de stress post-traumatique et les troubles anxieux généralisés (Kadri et al., 2007). La prévalence du trouble dépressif dans la population générale marocaine est estimée à 13,7 %. Parmi ces patients dépressifs, 6,3 % ont déjà fait une tentative de suicide (Oneib et al., 2015). Environ la moitié des patients dépressifs sont diagnostiqués avec un trouble anxieux (Fava et al., 2000 ; Zimmerman et al., 2019). Au cours des derniers mois, depuis que le nouveau coronavirus s'est répandu dans le monde entier, le nombre de patients souffrant de troubles anxieux et dépressifs a augmenté de façon spectaculaire (Salari et al., 2020). Dans sa forme typique, la dépression peut être définie comme un trouble psychologique caractérisé par une tristesse persistante, un sentiment de culpabilité et une perte d'intérêt (OMS, 2017). L'anxiété est un état émotionnel, réactionnel et généralisé qui se traduit par des réactions physiologiques (accroissement de la pression artérielle, tachycardie) et comportementales caractérisées par une augmentation de la vigilance et des réponses d'évitement (Craske et Stein, 2016). Ces sentiments accablants peuvent provoquer des émotions fortes et rendent la personne incapable de vivre normalement (Kroenke et al., 2007). Les troubles de la dépression et d'anxiété s'accompagnent d'autres charges que celles qui sont sur les systèmes de santé, telles que la perte de productivité par l'augmentation du risque accru de chômage.

Ces troubles psychiatriques complexes ont des causes multifactorielles incluant les profils génétiques, l'âge, le sexe, les événements de la vie individuelle, la dépendance aux substances psychoactives et les pathologies liées aux fonctions cérébrales (**Pandya et al., 2012 ; Belujon et Grâce, 2017 ; Kohler et al., 2018**). Le traitement des troubles de la dépression et l'anxiété repose principalement sur l'utilisation des anxiolytiques et des antidépresseurs seuls ou en association avec des thérapies psychologiques (**Campos et al., 2021**). Les benzodiazépines sont les médicaments les plus prescrits dans le traitement de l'anxiété, leurs effets bénéfiques peuvent s'accompagner de plusieurs effets secondaires indésirables, parfois très gênants comme les troubles de la mémoire, vertiges, des réactions paradoxales et la baisse de la vigilance (**Buxeraud et Faure, 2019**). Par ailleurs, le traitement de la dépression repose sur l'association du traitement médicamenteux et de psychologie. Le traitement pharmacologique est basé sur l'utilisation des antidépresseurs qui régulent les déficiences en monoamines cérébrales qui serait à l'origine de la dépression. Les TCA sont classiquement utilisés pour inhiber le recaptage des neurotransmetteurs notamment la sérotonine et la noradrénaline. Tandis que les ISRS sont des antidépresseurs qui inhibent d'une manière sélective la recapture de la sérotonine. Également, l'IRSNa sont largement utilisés comme inhibiteur de la recapture présynaptique de la sérotonine et de la noradrénaline (**Agbokou et Fossati, 2008**). Dans ces dernières années, plusieurs études montrent que des classes plus récentes d'antidépresseurs présentaient un risque élevé d'effets indésirables comme augmentation du risque d'attaque cardiovasculaire et les problèmes liés à la tolérance (**Wang et al., 2018**). En outre, le traitement des troubles dépressifs et anxieux repose sur la psychothérapie notamment la thérapie cognitivo-comportementale basée sur des techniques et des exercices de relaxation, de respiration, d'exposition graduelle aux situations redoutées et de modification des fausses croyances (**Agbokou et Fossati, 2008**).

Les remèdes à bases de plantes médicinales sont utilisés depuis longtemps dans le traitement des troubles psychiatriques notamment la dépression et l'anxiété. Une étude ethnobotanique a permis d'inventorier une vingtaine de plantes utilisées majoritairement au Maroc dans le traitement des troubles de l'anxiété (**Doukkali et al., 2015**). L'incorporation de substances d'origines végétales dans les traitements des troubles psychologiques est bien établie depuis longtemps (**Sarris, 2017**). Des études expérimentales récentes montrent l'efficacité de quelques extraits de plantes contre les troubles psychiatriques notamment la dépression et l'anxiété (**Benammi et al., 2014 ; Berkiks et al., 2018**). Bien que les mécanismes exacts de cet

effet n'aient pas été entièrement découverts, des études préliminaires montrent l'implication de divers mécanismes notamment l'augmentation du niveau de 5-HT dans le cerveau par l'inhibition du recaptage, la modulation du système noradrénergique, l'amélioration du système catécholaminergique, la modulation de la neurotransmission sérotoninergique, l'augmentation de l'expression de la protéine spécifique dans l'hippocampe et la modulation du neurotransmetteur monoamine (Singh et al., 2009 ; Gu et al., 2012 ; Teixeira et al., 2013 ; Zheng et al., 2013 ; Ghasemie et al., 2015 ; Liang et al., 2016 ; Amoanteg et al., 2018).

Hyoscyamus muticus est utilisé depuis longtemps, dans la médecine traditionnelle saharienne, pour traiter les maux de tête, les crampes musculaires, les palpitations, l'anxiété et aussi utilisée pour ces effets toniques et hallucinogènes (Hammiche et Maiza, 2006, Hammiche et al., 2013). Cette espèce est très riche en alcaloïdes tropaniques tels que hyoscyamine, atropine et scopolamine. Dans cette partie de notre travail nous s'intéresse à l'étude de l'effet de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* (MEHM) sur la dépression et l'anxiété chez les animaux en utilisant des tests de comportements. Dans un premier temps nous évaluons le potentiel anxiolytique de MEHM en utilisant le test de la chambre claire/ obscure et le test de labyrinthe en croix surélevé. Dans un deuxième lieu nous vérifions le pouvoir antidépresseur de MEHM en utilisant le test de la nage forcée, test de la suspension caudale et le test du champ ouvert.

2. Matériels et méthodes

2.1 Étude du comportement chez les animaux

L'étude de comportement constitue un défi pour les scientifiques ; ce dernier réside dans la complexité de comportement et l'intégrité des différentes fonctions (motrice, sensorielle, cognitive et émotionnelle) impliquées dans la coordination et le contrôle des comportements (Lezak et al., 2017). Un scientifique doit tenir en compte de deux facteurs principaux dans le choix d'un modèle animal dans l'étude de comportement : les capacités éthologiques naturelles de l'animal et la possibilité d'utiliser ce modèle animal pour d'autres expériences (Carter et Shieh, 2015). L'éthologie animale peut être définie par la capacité naturelle d'un animal à adopter des comportements spécifiques. Par exemple, les rats et les souris sont capables de réaliser des tâches cognitives plus complexes à base d'émotion, de cognition et de comportement social (Carter et Shieh, 2015). Plus récemment, les souris sont parmi les organismes modèles de mammifères les plus utilisés dans de nombreux tests neuropharmacologiques et de neurosciences

comportementales, car elles peuvent être utilisées simultanément pour des expériences électrophysiologiques, moléculaires et génétiques (Carter et Shieh, 2015 ; Ellenbroek et Youn, 2016). C'est un modèle animal très adapté à l'étude d'une variété de comportements en rapport avec certaines maladies psychologiques humaines comme la dépression et l'anxiété (Lezak et al., 2017). Divers types des tests comportementaux ont été élaborés depuis plusieurs années, des plus simples aux plus complexes liés à la cognition et la motivation (Carola et al., 2002).

2.2 Évaluation de l'effet de MEHM sur l'anxiété chez les souris

2.2.1 Test de la boîte claire/sombre

2.2.1.1 Principe

C'est un test couramment utilisé dans l'exploration de comportement anxieux chez les rongeurs. Il s'agit d'une chambre en bois divisée en un compartiment clair et un autre sombre. Les rongeurs naturellement préfèrent les parties sombres aux parties claires. Lorsque les souris sont placées dans un nouvel environnement, elles ont tendance à explorer le nouvel milieu (Bourin et Hascoet, 2003). Chaque fois qu'un rongeur est placé dans un nouvel environnement spatial, un comportement exploratoire est déclenché pour recueillir des informations sur l'endroit inconnu. Parmi ces comportements, on distingue : la disponibilité des compagnons, la recherche des sources de la nourriture ou de nidification ainsi que la présence de prédateurs et des voies de sortie potentielles (Leussis et Bolivar, 2006).

2.2.1.2 Protocole expérimental

Le dispositif est constitué de deux compartiments de taille égale (50 x28x28 cm) (Figure 54). L'un des compartiments est peint en blanc et éclairé par une lampe à 60W (710 Lumens), tandis que l'autre est peint en noir et non éclairé. Les deux compartiments sont connectés par une porte (5x5x5cm) permettant à l'animal de se déplacer librement entre les compartiments (Crawley et Goodwin, 1980 ; Serchov et al., 2016). Dans ce travail, les souris utilisées ont été divisées en cinq groupes, dont six animaux pour chaque groupe :

- **Groupe 1** : Souris traitées par DMSO10%.
- **Groupe 2** : Souris traitées avec une dose de 50 mg/kg de MEHM.

- **Groupe 3** : Souris traitées avec une dose de 100 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 4** : Souris traitées avec une dose de 200 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 5** : Souris traitées avec un anxiolytique, le diazépam (1mg/kg).

Une heure après le traitement, chaque animal a été placé au centre de la chambre sombre pendant 30 secondes après que la porte été ouverte ; l'activité exploratrice a été observée pendant cinq minutes (**Goeldner, 2008**). Plusieurs paramètres ont été enregistrés : le temps passé par les animaux dans le compartiment illuminé (Tcc), la transition entre les deux compartiments (Tr) et le nombre des levées « rearing ».



Figure 54 : Dispositif du test chambre claire et obscure.

2.2.2 Test du labyrinthe en croix surélevé ou Elevated Plus Maze « EPM »

2.2.2.1 Principe

Ce test est généralement utilisé pour évaluer l'état anxieux chez les rongeurs ; il est basé sur la réaction innée et spontanée de l'animal face à une situation anxiogène, donc c'est un test non conditionné. Le test de labyrinthe en croix surélevé peut être utilisé pour évaluer l'effet des agents pharmacologiques (médicaments, drogues, hormones) sur l'anxiété. Il est aussi très utile

pour étudier les structures et les mécanismes impliqués dans le comportement anxieux chez les rongeurs (Walf et Frye, 2007).

2.2.2.2 Protocole expérimental

La procédure du test a été réalisée conformément à la méthode de Walf et Frye (2007). L'appareil de ce test se compose d'un bras surélevé (55 cm du sol), de deux bras fermés (30×10×17 cm) et de deux bras ouverts (30×10 cm) placés en opposition, avec une zone centrale (zone d'intersection) de (10×10 cm) (Figure 55). Les souris ont accès à tous les bras et peuvent se déplacer librement entre eux (Komada et al., 2008). Au total, cinq groupes (n=6) ont été utilisés selon la répartition suivante :

- **Groupe 1** : Souris traitées par DMSO10% « le témoin négatif ».
- **Groupe 2** : Souris traitées avec une dose de 50 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 3** : Souris traitées avec une dose de 100 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 4** : Souris traitées avec une dose de 200 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 5** : Souris traitées par un anxiolytique de référence ; le diazépam (1 mg/kg).

L'administration des différentes doses de l'extrait a été réalisée une heure avant le début du test, les animaux ont été transférés dans la salle d'expérimentation la veille de l'expérience. Les souris ont été placées individuellement dans la zone centrale et ont volontairement exploré le labyrinthe pendant 5 minutes (Figure 55). Le temps passé dans les bras ouverts (TOA), le temps passé dans les bras fermés (TCA), le nombre d'entrées dans les bras ouverts (OAE), le nombre d'entrées dans les bras fermés (CAE), et l'élevage (rearing) dans chaque bras (ROA/RCA) sont considérés comme de l'anxiété induite par l'espace ouvert chez les souris. Les données obtenues ont été transformées en pourcentages à l'aide des formules suivantes :

$$\%TOA = \frac{TOA}{TOA + TCA} * 100$$

$$\%OAE = \frac{OAE}{OAE + CAE} * 100$$

$$\%ROA = \frac{ROA}{ROA + RCA} * 100$$



Figure 55 : Dispositif du test du labyrinthe en croix surélevé.

2.3 Évaluation de MEHM sur les tests de dépression chez les souris

2.3.1 Test de la nage forcée

2.3.1.1 Principe

Le test de la nage forcée, dit modèle de Porsolt est un test de comportement chez les rongeurs utilisé pour l'évaluation des médicaments antidépresseurs, l'efficacité antidépressive de nouveaux composés, et des manipulations expérimentales qui visent à rendre ou à prévenir la dépression. Il consiste à contraindre les souris à nager dans une enceinte fermée (aucune possibilité de s'échapper). Le temps d'immobilité est un indicateur de l'état dépressif de l'animal (Figure 56). Ce comportement d'immobilité est réduit par des antidépresseurs classiques efficaces (**Homes et al., 2002**).

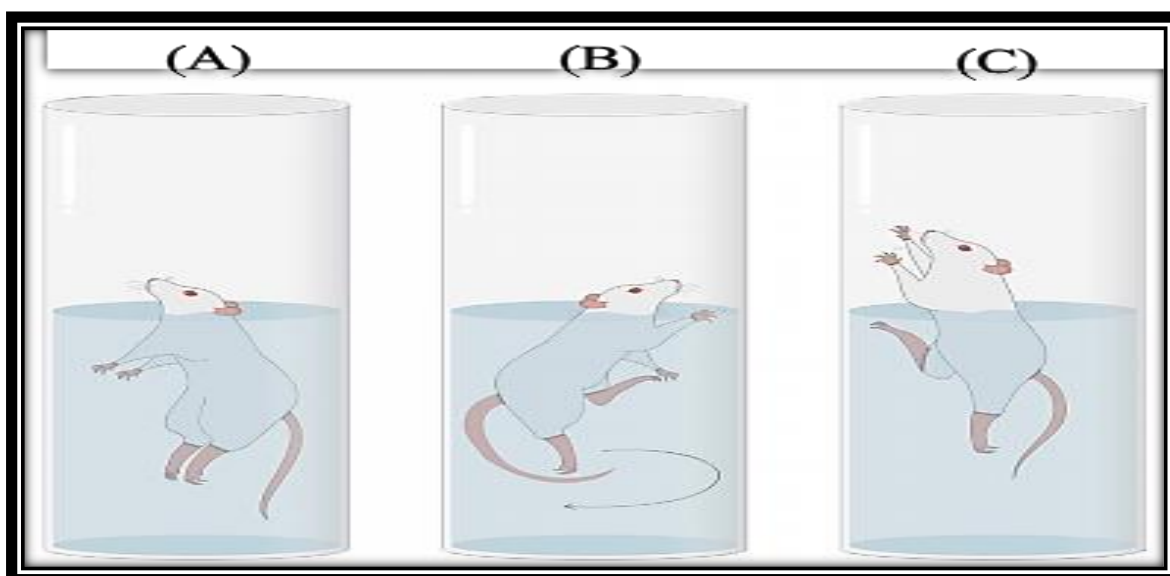


Figure 56 : Schémas de comportement de la souris pendant le test de la nage forcée ; A : Immobilité ; B : nage ; C : comportement d'escalade (Valvassori et al., 2017).

2.3.1.2 Protocole expérimental

La manipulation a été réalisée selon la méthode décrite par **Porsolt et coll. (1977)**. Le test a été effectué en deux sessions, le pré-test et le test, séparées par un intervalle de 24 heures au cours duquel le traitement est administré. Lors du pré-test, des souris ont été placées individuellement dans un cylindre de Plexiglas transparent de dimension (21cm× 15cm). La profondeur de l'eau a été fixée à 15cm et la température de l'eau a été maintenue à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, cette profondeur ne permet pas à l'animal de poser ses pattes arrière sur le fond du cylindre (Figure 57). Tous les animaux ont été forcés à nager pendant 15 minutes, puis retirés du cylindre, séchés et réchauffés par un chauffage avant d'être renvoyés dans leur cage. Dans cette étude nous avons utilisé cinq groupes de souris selon la façon suivante :

- **Groupe 1** : Souris traitées par DMSO10% « le témoin négatif ».
- **Groupe 2** : Souris traitées avec une dose de 50 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 3** : Souris traitées avec une dose de 100 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 4** : Souris traitées avec une dose de 200 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 5** : Souris traitées par une injection intramusculaire d'un antidépresseur de référence la Clomipramine (Anafranil ; 25 mg/kg).

Au cours de la séance de test, les souris des groupes 1,2,3, et 4 ont reçu différentes doses de l'extrait une heure avant le début du test. Pour le groupe témoin positif, les souris ont reçu une injection intramusculaire 15minutes avant le test. Les animaux ont été forcés à nager pendant six minutes et la durée totale d'immobilité a été mesurée. Les souris ont été considérées comme immobiles lorsqu'elles font un seul mouvement pour garder leur tête hors de l'eau (Figure 57). Toutes les expériences ont été réalisées pendant la période entre 9 et 14 heures.



Figure 57 : Dispositif expérimental du test de la nage forcée.

2.3.2 Test de la suspension caudale « Tail suspension test »

2.3.2.1 Principe

Le test de la suspension par la queue est un procédé simple, fiable et rapide utilisé largement dans l'évaluation de l'état dépressif chez les rongeurs. Il repose sur l'analyse du comportement d'un rongeur essayant de se soustraire à une situation inconfortable (Figure 58). Le test de la suspension par la queue résout plusieurs problèmes rencontrés dans le test de la nage forcée : l'immobilité est mesurée objectivement et aucune hypothermie n'est induite (Thierry et al., 1986). Pour éviter les faux positifs, il est préférable d'évaluer l'activité

locomotrice de la molécule testée en parallèle du test de la suspension caudale (Porsolt et al., 1978).

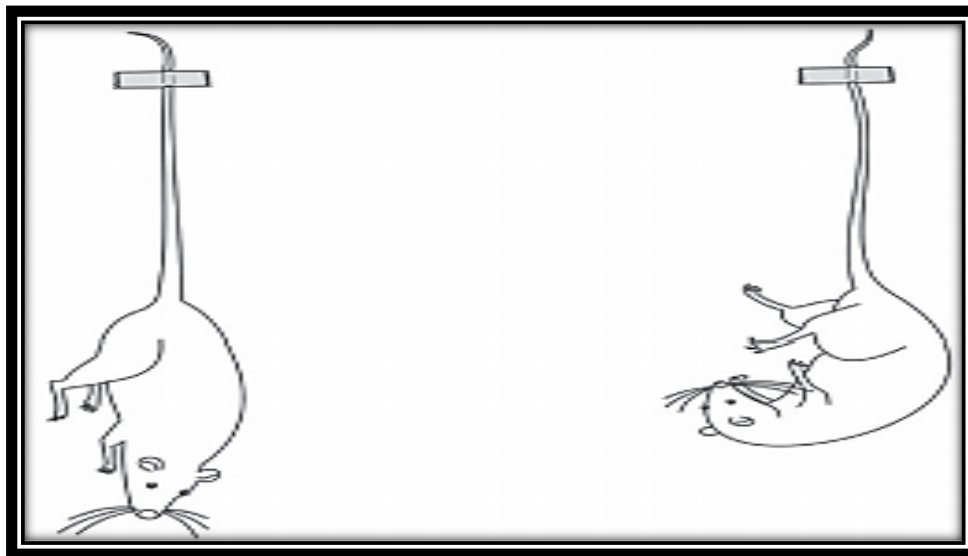


Figure 58 : Représentation schématique de comportement d'immobilité et de mobilité chez les souris pendant le test de la suspension caudale (Abelaira et al., 2013).

2.3.2.2 Protocole expérimental

Le test a été réalisé selon la méthode proposée par Stéru et al., (1985). Dans ce test les souris sont réparties en plusieurs groupes :

- **Groupe 1** : Souris traitées par DMSO10 % « le témoin négatif ».
- **Groupe 2** : Souris traitées par la dose 50 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 3** : Souris traitées par la dose 100 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 4** : Souris traitées par la dose 200 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 5** : Souris traitées par une injection intramusculaire d'un antidépresseur standard : Clomipramine (Anafranil ; 25 mg/kg).

Une heure après le gavage, les animaux ont été suspendus individuellement à 50 cm au-dessus du sol à l'aide d'un ruban adhésif placé à environ 1 cm de l'extrémité de la queue (Figure 59). Pour le groupe témoin positif, l'injection de la Clomipramine (25 mg/kg) a été réalisée par voie intramusculaire 15 minutes avant le début de test. La durée totale d'immobilité a été enregistrée pendant 6 min et les animaux étaient considérés comme immobiles, lorsqu'ils étaient

suspendus passivement et complètement immobiles (Stéro et al., 1987 ; Pinto-Brod et al., 2016).



Figure 59 : Dispositif utilisé pour le test la suspension caudale.

2.3.3 Test de champs ouvert (Open field) « OF »

2.3.3.1 Principe

Le test d'OF est utilisé pour mesurer quantitativement l'activité exploratrice et locomotrice chez les rongeurs. Il s'agit d'un modèle largement utilisé pour l'évaluation de la déficience locomotrice dans des modèles animaux de maladies neuromusculaires et l'évaluation de l'efficacité des médicaments qui peuvent améliorer l'activité locomotrice (Tatem et al., 2014). L'appareil de test du champ ouvert est principalement composé d'une enceinte en bois de forme carrée avec des murs qui empêchent l'animal de s'échapper (Gould et al., 2009). Parmi les paramètres observés pendant le test : la distance parcourue, temps passé dans le centre, l'activité verticale, le toilettage, le nombre de carreaux traversés, la défécation et l'urination (Figure 60).

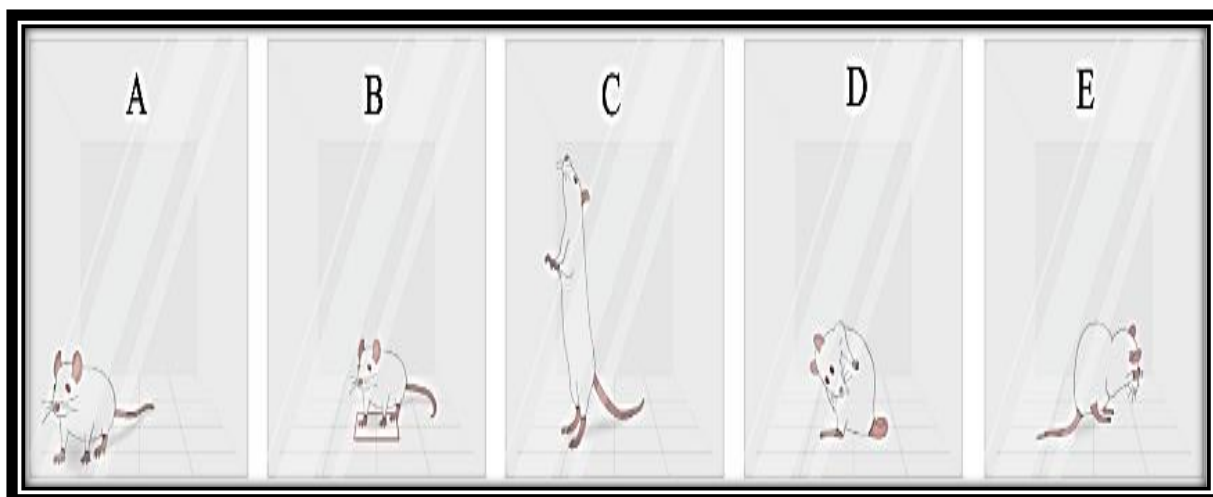


Figure 60 : Représentation des paramètres observés dans le test du champ ouvert : (A) croisement (crossing), (B) comportement à risque (C) élévation (rearing), (D) toilette (grooming) et (E) de reniflage (Sniffing) (Valvassori et al., 2017).

2.3.3.2 Protocole expérimental

L'appareil utilisé consistait en une enceinte carrée en bois de dimension (40×30×20 cm) divisée en 12 carrés de surface égale. Les souris sont divisées en cinq groupes :

- **Groupe 1** : Souris traitées par DMSO10 % « le témoin négatif ».
- **Groupe 2** : Souris traitées par la dose 50 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 3** : Souris traitées par la dose 100 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 4** : Souris traitées par la dose 200 mg/kg de MEHM.
- **Groupe 5** : Souris traitées par une injection intramusculaire d'un antidépresseur Clomipramine (Anafranil ; 25 mg/kg).

Les souris traitées ont été placées individuellement au centre du champ et ont pu explorer la zone librement pendant 5 minutes. Les paramètres comportementaux suivants ont été examinés quantitativement : nombre de carrés de sol croisés (intérieur, périphérique et total), reniflement, toilette, levée et escalade (Khalki et al., 2014). La mesure de l'activité locomotrice a été enregistrée par le calcul de nombres des carrés traversés et l'évaluation de l'activité exploratoire a été estimée par la détermination du nombre de levées (rearings). En chaque essai, l'appareil a été nettoyé à fond par l'alcool éthylique (70 % v/v).

3. Résultats

3.1 Évaluation d'une éventuelle propriété anxiolytique de la MEHM

3.1.1 Résultats de la chambre claire et obscure « light and dark test »

Comme nous l'avons expliqué dans la partie « matériels et méthodes », le test de la chambre claire et obscure est utilisé pour évaluer l'effet de l'extrait sur l'anxiété. L'analyse statistique des résultats montre que les doses de 100 et 200 mg/kg ont induit une augmentation significative ($p < 0,05$) du temps passé dans le compartiment illuminé [$H=18,176$, $Df = 4$, $P=0,001$; Tableau XV]. Les différentes doses de l'extrait n'ont pas d'effet significatif sur le nombre des transitions ($p=0,695$) et le nombre de levées ($p=0,083$). Nous avons remarqué une légère augmentation du nombre des redressements dans le côté lumineux chez les animaux traités par la dose 200 mg/kg. De même, le diazépam à la dose de 1 mg/kg a considérablement augmenté le temps passé dans le côté éclairé par rapport au groupe traité seulement par DMSO 10 % [$H=18,176$, $Df = 4$, $p < 0,05$; Tableau XV]. De plus, nos résultats ont montré que le diazépam augmente le nombre de levées réalisé par les souris dans le compartiment illuminé, mais statistiquement non significatif [$H=8,230$, $Df = 4$, $P=0,083$].

Tableau XV : Résultats obtenus dans le test de la boîte claire/obscur chez la souris. Toutes les valeurs sont représentées par la moyenne \pm ESM (n=6) ; *p<0,05 par rapport au groupe contrôle négatif.

Les traitements	Dose (mg/kg)	Les paramètres comportementaux étudiés		
		Temps passé dans le compartiment clair	Nombre des transitions	Nombre de redressement
Contrôle (DMSO10 %)	-	44.42 \pm 7,35	9.16 \pm 2,19	5.66 \pm 1,05
MEHM	50	66.18 \pm 10,13	10.16 \pm 1,68	7.00 \pm 2,35
MEHM	100	98.71 \pm 3,83*	10.16 \pm 1,13	6.33 \pm 1,54
MEHM	200	108.93 \pm 5,00*	9.33 \pm 1,33	9.50 \pm 1,23
Diazépam	1	120.88 \pm 19,95*	7.16 \pm 1,66	14.83 \pm 4,30

3.1.2 Effet de la MEHM dans le test de labyrinthe en croix surélevé chez la souris (EPMT)

Ce test est très utile dans l'exploration du comportement anxieux chez les rongeurs. Les résultats montrent que l'administration de la dose de 200 mg/kg de l'extrait augmente significativement le pourcentage du temps passé dans le bras ouvert (% TOA) [P<0.05 ; Figure 61 A], le pourcentage d'entrées dans les bras ouverts et le nombre de redressements (% EOA) [H=23.797, Df=4 ; p<0.05 ; Figure 66 B]. Le diazépam a montré une augmentation significative du pourcentage de TOA [H=23.402 Df =4 ; P=<0,001 ; Figure 61 A]. Le pourcentage d'entrées dans les bras ouverts (% EOA) a augmenté de manière significative (p=0,02 ; p<0,05 ; Figure 61 B) par rapport au groupe témoin négatif. En outre, la MEHM à la dose de 200 mg/kg a montré une augmentation significative du pourcentage de nombre de redressements (%ROA) dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevée (Figure 61 C). Le traitement avec les doses de 50 et 100 mg/kg d'extrait n'a aucun effet significatif sur les paramètres étudiés. Le diazépam augmente significativement les paramètres TOA, TCA, OAE, ROA et les pourcentages de TOA [H=23.402 Df =4 ; P=<0,001 ; Figure 61 A ; Tableau XVI], % EOA (p<0,001 ; Figure 61 B) et ROA [H=23.797, Df=4 ; p=<0,001 ; Figure 61 C ; Tableau XVI]. Les deux doses de 50 et 100 mg/kg de MEHM n'ont pas montré de changements significatifs dans les différents paramètres calculés. Aussi, le calcul du pourcentage de nombre de redressement dans les bras

ouverts du labyrinthe ne révèle aucune différence entre le groupe traité par diazépam et le témoin négatif.

Tableau XVI : L'effet de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* sur les paramètres comportementaux observés dans le modèle d'anxiété du labyrinthe en croix surélevé. TOA : temps passé à bras ouverts ; TCA : temps passé dans les bras fermés ; OAE : nombre d'entrées dans les bras ouverts ; CAE : nombre d'entrées dans les bras fermés ; ROA : nombre de redressement dans les bras ouverts ; RCA : nombre de redressement dans les bras fermés. ***p<0,001 ; **p<0,01 ; * p<0,05 par rapport au groupe de contrôle.

	Doses (mg/k)	TOA	TCA	OAE	CAE	ROA	RCA
Control	-	7,75±4,24	274,09±9,88	7,83±1,24	9,83±0,83	0,50±0,34	18,66±3,47
MEHM	50	7,34 ±2,43 Ns (P=1.00)	210,50 ±9,10 (**) P=0.001	8.83 ±1,16 (Ns) P=0.99	20,50 ±3,63 (* P<0.05	2,66 ±0,80 Ns	26,00 ±2,08 Ns (P=0.464)
MEHM	100	17,58 ±1,74 Ns (P=0.0096)	192,13 ±4,79 (***) P<0.001	12,16 ±2,67 (Ns) P=0.50	15,66 ±2,75 Ns	5,50 ±0,67 (* P<0.05	39,83 ±5,09 (** (P=0.002)
MEHM	200	23,91 ±2,04 (**) P=0.003	175,29 ±9,58 (***) P<0.001	20,16 ±3,41 (**) P=0.004	11,16 ±2,08 Ns	10,33 ±0,80 (** P<0.01	29,50 ±4,37 Ns (P=0.161)
Diazépam	1	36,68 ±3,78 (***) P<0.001	147,37 ±17,26 (***) P<0.001	27,00 ±2,40 (***) P<0.001	7,16 ±1,27 Ns	16,50 ±1,52 (***) P=<0,001	12,00 ±3,13 Ns (P=0.545)

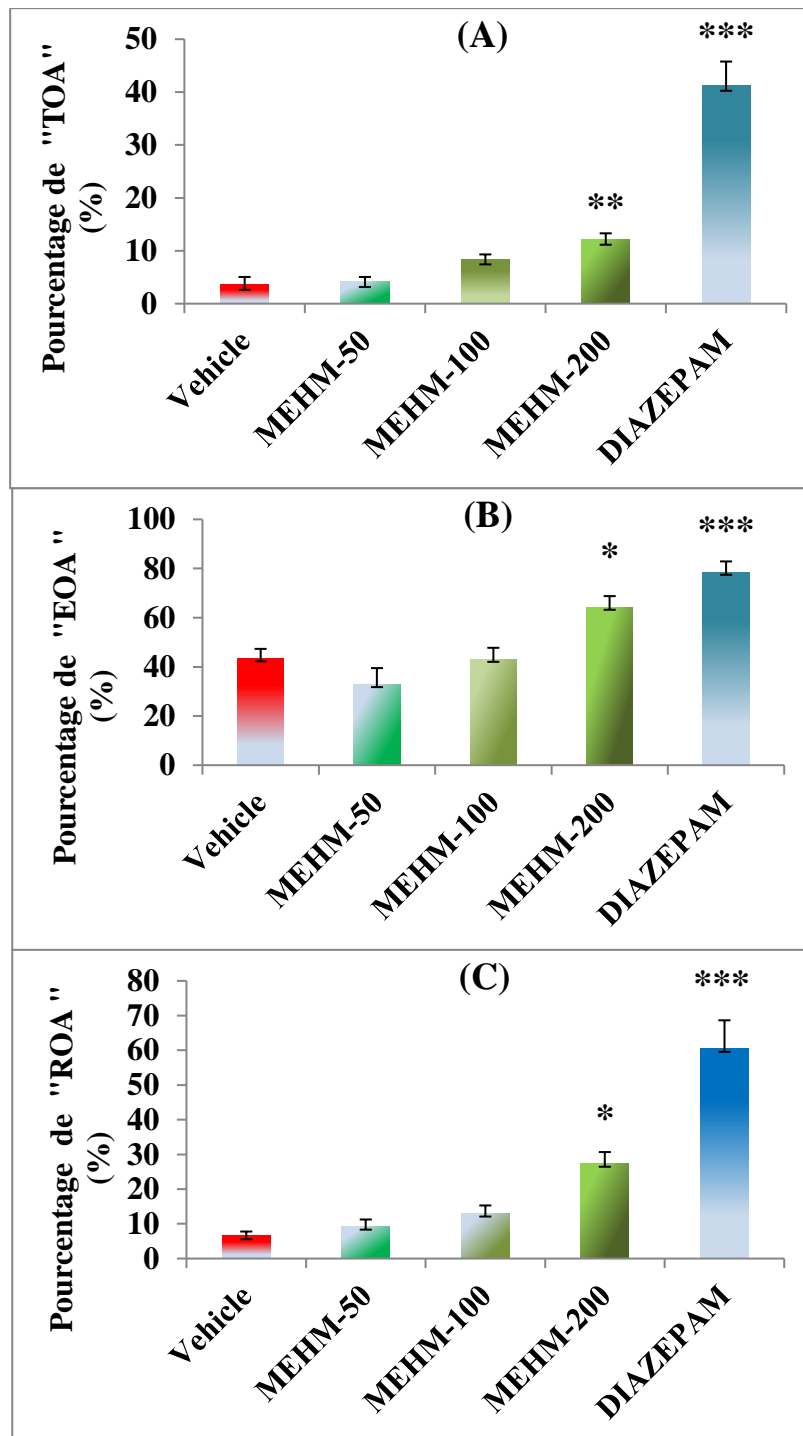


Figure 61 : L'effet anxiolytique de MEHM et le diazépam dans le test de labyrinthe en croix surélevé. Les paramètres étudiés sont exprimés en pourcentage de temps passé à bras ouverts « %TOA » (A); le pourcentage d'entrées à bras ouverts « % OAE » (B) et le pourcentage d'élévation à bras ouverts « % ROA » (C). Les symboles statistiques utilisées (***) $p < 0,001$; (*) $p < 0,05$.

3.2 Évaluation d'une éventuelle propriété antidépressive du MEHM sur le modèle de comportement animal

3.2.1 Effet de la MEHM sur le temps d'immobilisation dans le test de la suspension caudale (TST)

Les résultats de test de la suspension caudale indiquent que les deux doses de MEHM (100 et 200 mg/kg) ont produit une réduction du temps d'immobilité mesuré (Figure 62). L'effet significatif obtenu par la dose de 200 mg/kg [$H= 23,308$, $Df= 4$, $p<0,001$] été plus élevé que la dose de 100 mg/kg. Nous avons constaté que la dose 50 mg/kg de MEHM n'a pas d'effet significatif sur le temps d'immobilité. La Clomipramine, antidépresseur synthétique de référence, a induit une réduction significative du temps d'immobilité ($p<0,001$) supérieure à celle de l'effet de l'extrait de la plante même avec la dose maximale utilisée de 200 mg/kg.

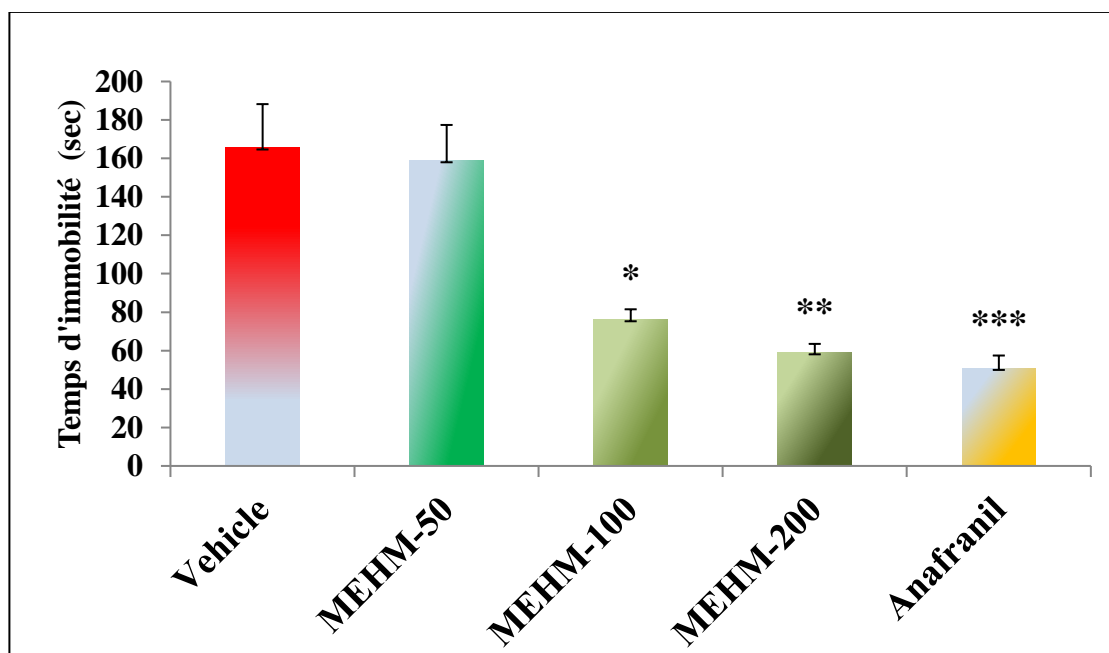


Figure 62 : Résultats obtenus après traitement des animaux par différentes doses de l'extrait de *Hyoscyamus muticus* (MEHM 50, 100 et 200 mg/kg) et l'Anafranil (antidépresseur de référence) dans le test de suspension caudale. Les histogrammes représentent la moyenne \pm S.E.M du temps d'immobilité. La comparaison des groupes traités a été réalisée avec un groupe témoin négatif traité par DMSO 10 %. Les symboles de significations utilisés : (***) $p<0,001$; (*) $p<0,05$.

3.2.2 Effet de la MEHM dans le test de la nage forcée (FST)

Les résultats obtenus dans le test de la nage forcée sont illustrés dans la figure 63. L'analyse statistique par l'ANOVA à sens unique et la comparaison entre les différents groupes traités montrent que les doses 200 et 100 mg/kg ont un effet significatif ($p < 0,001$ et $p < 0,01$ respectivement) sur le temps d'immobilité des animaux pendant la nage. De même, la Clomipramine (20 mg/kg) induit une réduction significative de la durée d'immobilisation ($p < 0,001$) par rapport au groupe témoin.

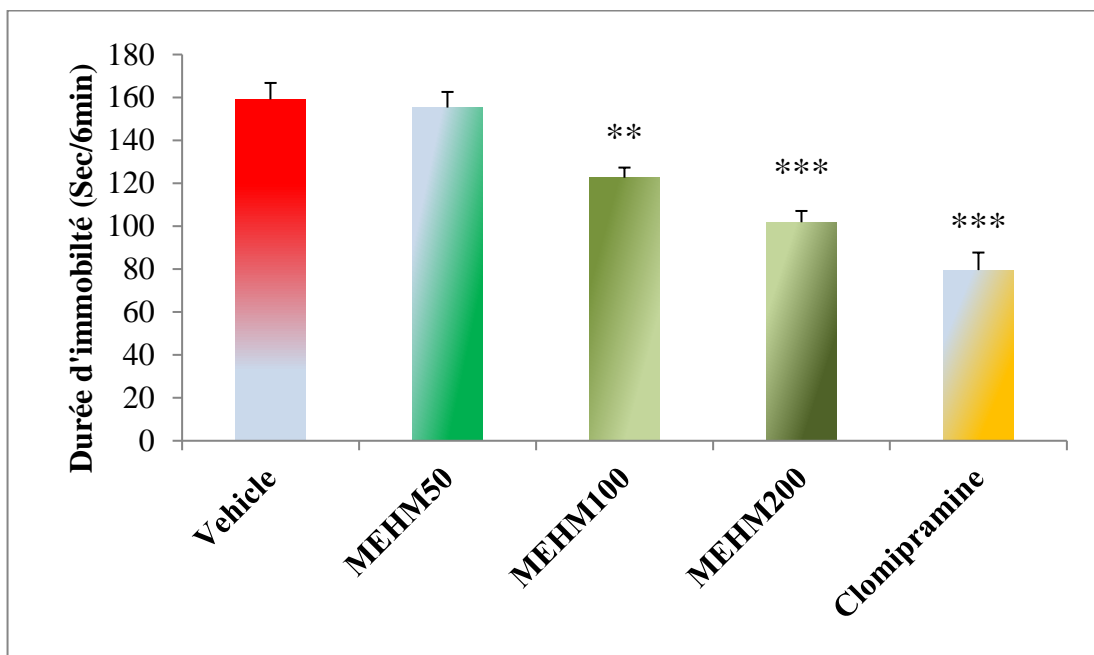


Figure 63 : Effet de la MEHM (50, 100 et 200 mg/kg) et de la Clomipramine (antidépresseur de référence) sur la durée d'immobilité dans le test de nage forcée chez la souris. Les valeurs sont considérées comme statistiquement significatives lorsque (***) $p < 0,001$; (**) $p < 0,01$; (*) $p < 0,05$.

3.2.3 Évaluation de l'effet de l'extrait sur l'activité locomotrice dans le test d'Open field (OFT)

D'après nos résultats, les animaux traités par les deux doses 100 et 200 mg/kg ont montré une augmentation remarquable du nombre total de carrés traversés ($P < 0,01$; $p < 0,05$ respectivement). Seule la dose de 200 mg/kg de l'extrait était capable d'augmenter de manière

significative le nombre d'entrées dans la partie centrale du champ ($p < 0,01$) et dans les carrés périphériques du champ ($p < 0,05$). D'autre part, une augmentation significative du comportement de redressement a été induite par les deux doses d'extrait (100 et 200 mg/kg ; $p < 0,05$ et $p < 0,01$; successivement) (Tableau 17). Dans ce test, le traitement par le diazépam à 1 mg/kg n'a aucun effet sur le nombre d'entrées dans les carreaux centraux et périphériques du champ libre. Au contraire, le diazépam a augmenté d'une manière significative ($p < 0,01$) le nombre de redressements des animaux en comparaison avec le groupe témoin traité seulement par une solution de DMSO 10 %.

Tableau XVII : L'effet de la MEHM et du diazépam sur les paramètres comportementaux dans le test en champ ouvert plein air chez la souris. ANOVA à sens unique suivie de la méthode de Dunnett pour la comparaison entre les groupes. La valeur obtenue est représentée par Mean \pm S.E.M., n=6 pour chaque groupe. La différence significative par rapport au groupe de contrôle est déterminée par (***) $p < 0,001$; (*) $p < 0,05$.

Les traitements	Dose (mg/kg)	Les paramètres comportementaux enregistrés			
		Nombre total des entrées	Nombre d'entrées dans la partie centrale	Nombre d'entrées dans la partie périphérique	Redressement
Contrôle	-	81,16 \pm 5,19	7,83 \pm 1,53	73,33 \pm 4,25	33,00 \pm 3,50
MEHM	50	135,66 \pm 17,96 (Ns)	7,16 \pm 1,72 (Ns)	128,50 \pm 17,51 (Ns)	35,33 \pm 3,42 (ns)
MEHM	100	158,83 \pm 18,67 $P < 0,05$ (*)	13,66 \pm 2,89 (Ns)	145,16 \pm 16,01 (Ns)	21,00 \pm 2,30 $P = 0,033$ (*)
MEHM	200	192,33 \pm 6,52 $P < 0,01$ (**)	18,16 \pm 1,64 $P = 0,002$ (**)	174,16 \pm 5,28 $P < 0,05$ (*)	18,16 \pm 2,25 $P = 0,006$ (**)
Diazépam	1	55,16 \pm 10,18 (Ns)	5,33 \pm 1,14 (Ns)	49,83 \pm 9,29 (Ns)	17,16 \pm 2,21 $P = 0,003$ (**)

4. Discussion

Au cours des dernières décennies, l'intérêt pour les métabolites secondaires des plantes s'est accru, et l'utilisation de ces métabolites bioactifs contre l'anxiété et la dépression est devenue fortement recommandée chez l'homme (**Fajemiroye et al., 2016**). Les plantes médicinales contiennent des milliers de molécules qui peuvent avoir un effet positif sur la santé psychiatrique. Dans la présente étude, nous essayons d'étudier l'effet de l'extrait méthanolique des feuilles de *Hyoscyamus muticus* (MEHM) sur la modulation de l'anxiété et de dépression.

L'étude de l'anxiété et de la dépression constitue un défi majeur pour la communauté scientifique. L'hétérogénéité des symptômes chez les patients, l'implication de multiples mécanismes neurochimiques et psychologiques rendent difficile l'étude de ces comportements chez l'homme et les rongeurs (**Cryan et al., 2005 ; Planchez et al., 2019**). Pour évaluer l'effet de la plante sur le comportement, il faut utiliser un modèle animal afin de reproduire des symptômes ressemblants le plus possible aux symptômes psychologiques humains (**Vaugeois et al., 2004**). Les rongeurs exposés à de nouveaux « environnements ou facteurs de stress ont montré plusieurs modifications comportementales critiques, notamment un comportement d'échappement et de diminution de l'exploration chez les animaux » (**Palanza, 2001**). Le suivi et l'interprétation de ces changements comportementaux critiques pourraient nous fournir des informations avantageuses et fiables sur le dépistage de la dépression et de l'anxiété. Plusieurs tests comportementaux ont été élaborés en utilisant des facteurs de stress typiques tels que la nage forcée, la suspension par la queue, l'exploration libre dans un champ ouvert, la sensibilité à la lumière et l'obscurité (**Lezak et al., 2017**).

Dans un premier temps, nous avons évalué les éventuels effets anxiolytiques aigus de la MEHM et du diazépam à l'aide du test de la boîte claire sombre ou light and dark box test (DLT) et du test de labyrinthe surélevé ou elevated plus maze test (EPM). Ces deux tests sont largement utilisés dans le dépistage des médicaments à effet anxiolytique chez les animaux (**Garcia-Rios et al., 2019**). D'après nos résultats, le MEHM a démontré un effet significatif et dose dépendante dans le test de la chambre claire sombre et le labyrinthe surélevé. En effet, le MEHM et le diazépam étaient capables d'augmenter le temps passé par l'animal dans le compartiment éclairé de la boîte éclairée et d'augmenter les paramètres correspondant aux bras ouverts dans le test de labyrinthe surélevé. Ces comportements observés dans les deux tests soutiennent fortement

l'hypothèse de l'effet anxiolytique de l'extrait de *Hyoscyamus muticus*. Le diazépam, un médicament utilisé dans cette étude comme anxiolytique de référence, a induit une augmentation significative du pourcentage de temps passé, du nombre d'entrées et du nombre de redressement dans les bras ouverts. L'effet observé pour le diazépam était plus important que l'effet obtenu par l'utilisation de MEHM. Le diazépam a un effet important sur la réduction de comportements anxiogéniques sans affecter l'activité locomotrice générale des souris dans le test de labyrinthe surélevé (Wilson et al., 2004 ; Razack et al., 2018).

Pour confirmer les résultats obtenus dans le DLT et EPM, le test en champ libre a été effectué. Dans ce test les souris traitées par la dose 200 mg/kg de l'extrait montrent une augmentation du nombre d'entrées de carrés centraux et périphériques et du comportement de redressement. L'augmentation de l'activité de l'animal dans la zone centrale du champ ouvert pourrait être interprétée comme un comportement anxiolytique (Prut et al., 2003). Le diazépam n'a produit aucun changement significatif, mais on observe une légère augmentation du nombre de redressements « rearing ». D'autre part, dans ce test, les souris traitées avec la dose 200 mg/kg de l'extrait montrent une augmentation du nombre d'entrées de carrés centraux et périphériques et du comportement d'élevage. L'augmentation de l'activité dans la zone centrale des appareils de champ ouvert pourrait être interprétée comme un comportement de type anxiolytique (Prut et al., 2003). Dans ce test, nous n'avons pas pu confirmer que le diazépam a un effet anxiolytique.

L'administration orale de l'extrait a pu réduire de manière significative la durée du temps d'immobilisation dans le test de nage forcée et dans le test de la suspension caudale. Les doses 100 et 200 mg/kg de l'extrait de *H. muticus* ont réduit de manière significative le temps d'immobilisation dans le test de nage forcée ($p < 0,001$) et dans le test de suspension de la queue a été réduite dans le groupe traité par MEHM, notamment si l'on utilise la dose spécifiquement par la dose la plus élevée de MEHM. Le test de la nage forcée (FST) et le test de suspension de la queue (TST) sont largement utilisés pour détecter et caractériser l'efficacité des nouveaux médicaments antidépresseurs ainsi que leurs mécanismes neurobiologiques impliqués (Bourin et al., 2005). Ces deux modèles étaient basés sur le comportement de désespoir face à une telle position dont l'animal ne peut pas s'échapper ou s'accrocher à des surfaces à proximité. La mesure du temps d'immobilité est le comportement typique observé après avoir exposé les animaux à différents facteurs de stress. Dans le test de la nage forcée, la mesure de la durée

d'immobilité est le principal comportement actif suivi ; l'augmentation de l'immobilité tout au long de la période d'essai (6 minutes) peut être interprétée comme une diminution de comportement dépressif (**Can et al., 2012**). Pareillement, l'administration de l'extrait chez la souris a un effet marqué sur le temps d'immobilité dans le test de la suspension caudale. L'effet anti-immobilité produit par l'extrait de la plante a confirmé les résultats antérieurement obtenus dans le test de la nage forcée ce qui suggère un rôle important de MEHM dans la modulation du comportement dépressif chez les souris. L'effet de MEHM est similaire à celui de la Clomipramine (l'antidépresseur de référence). La Clomipramine a induit un effet positif sur la réduction du temps d'immobilité dans les deux tests utilisés dans l'évaluation de la dépression. La Clomipramine appartient à la famille des antidépresseurs tricycliques couramment utilisés dans le traitement des troubles obsessionnels compulsifs et qui agissent probablement en augmentant la transmission sérotoninergique et noradrénergique (**Hollander et al., 2000 ; Kellner, 2010**).

Le mécanisme neurochimique de la dépression est basé principalement sur la diminution de niveau de sérotonine, de la noradrénaline et de la dopamine dans le cerveau. Depuis des années, le traitement de la dépression repose pratiquement sur la même idée, celle d'augmenter la disponibilité de certaines monoamines, en particulier la sérotonine et la dopamine dans les fentes synaptiques entre les cellules nerveuses (**Zheng et al., 2013 ; Lanfumey et Hamon, 2005**). Récemment, plusieurs programmes de recherche ont été entamés pour trouver de nouvelles molécules antidépresseurs et d'améliorer les effets des molécules préexistantes (**Lanfumey et Hamon, 2005**).

Les mécanismes neurochimiques par lesquels MEHM pourrait induire l'effet antidépresseur ne sont pas encore élucidés. Cependant on peut émettre des hypothèses en se basant sur les données bibliographiques concernant les extraits de la plante la plus proche ; *H. niger*. L'extrait éthanolique de *Hyoscyamus niger*, une autre espèce du genre *Hyoscyamus*, a montré une réduction significative de la durée d'immobilité des animaux dans le test de la nage forcée et dans le test de suspension caudale (**Patil et al., 2013**). De même, l'effet antidépresseur observé pour l'extrait de *Hyoscyamus niger* semble impliquer la participation de plusieurs systèmes neurologiques (**Patil et al., 2013**). L'extrait aqueux de *Hyoscyamus niger* atténue la diminution du niveau de dopamine dans le striatum, en inhibant l'activité de l'enzyme MAO-B, Monoamine oxydase B, dans les mitochondries (**Sengupta et al., 2011**). On pourrait alors

supposer que MEHM pourrait agir aussi en inhibant la MAO-B par la quercétine qu'il contient. En nous basant sur le criblage phytochimique de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus*, nous trouvons une concentration importante de métabolites secondaires dont les phénols et flavonoïdes. Un des mécanismes possibles à l'origine de l'effet antidépresseur de l'extrait serait la présence de quercétine, comme composé majeur de la plante. En effet, la quercétine exerce une activité anxiolytique significative par l'intermédiaire des récepteurs GABA, dans le test du labyrinthe surélevé chez les souris (**Jung et Lee, 2014**). Il a été aussi confirmé que l'administration orale de quercétine augmentait le nombre d'entrées dans les bras ouverts et le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du test de labyrinthe surélevé (**Vissiennon et al., 2012**). La quercétine inhibe l'activité de l'enzyme MAO-A, la monoamine oxydase A, dans les mitochondries des cellules du cerveau chez la souris (**Bandaruk et al., 2012**) et produit son effet anxiolytique et antidépresseur en agissant sur les fonctions cholinergiques et sérotoninergiques (**Samad et al., 2018**).

5. Conclusion

Dans cette partie, nous avons démontré de très intéressants effets antidépresseurs et anxiolytiques, après l'administration par la voie orale de l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* chez la souris.

Les effets anxiolytiques de MEHM ont été évalués en utilisant le test de la chambre claire-sombre (DLT) et le test du labyrinthe en croix surélevé (EPM). L'extrait à la dose de 200 mg/kg, a révélé une réduction significative du comportement anxiogène et une augmentation des paramètres liés au temps passé dans la boîte lumière-obscurité, le temps passé dans le bras ouvert du test du labyrinthe surélevé, et le nombre de lignes centrales traversées dans le test du champ ouvert. L'activité antidépressive a été évaluée par le test de la nage forcée (FST) et le test de la suspension caudale (TST). Deux doses de l'extrait étaient efficaces pour réduire le temps d'immobilité dans le test FST et le TST. Dans les différents tests utilisés l'effet de diazépam, anxiolytique de référence, était plus important que celui des doses de MEHM. De même, l'effet de la clomipramine, antidépresseur de référence, était plus important que les doses de MEHM utilisées. Ces résultats significatifs obtenus ont montré que MEHM possède des propriétés neuropharmacologiques intéressantes.

Ces résultats obtenus constituent une base scientifique solide qui justifie l'utilisation traditionnelle de cette espèce dans la prise en charge des troubles d'anxiété au Maroc. Malgré la méconnaissance des mécanismes d'action impliqués dans les effets observés, les recherches faites jusqu'à maintenant permettent de considérer MEHM comme une alternative aux traitements antidépresseurs et anxiolytiques utilisés jusqu'à présent. La normalisation de ces utilisations neuropharmacologiques nécessite davantage d'autres études approfondies pour explorer les mécanismes impliqués dans les effets antidépresseurs et anxiolytiques. Ces propriétés ne sont pas dues à l'ensemble des composés chimiques contenus dans l'extrait mais probablement à des principes actifs susceptibles d'être responsables de ces effets, c'est pour cela qu'il faudrait approfondir des recherches pour la mise en évidence de ces phytoconstituants par un fractionnement bio-guidé plus poussé. Cela permettra d'isoler et d'identifier les principes actifs de *H. muticus*. Ces étapes ont été primordiales pour la mise en œuvre des initiatives innovantes pouvant déboucher dans l'avenir sur le développement de nouveaux médicaments efficaces contre l'anxiété et la dépression.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

Malgré le nombre considérable des recherches publiées sur les effets neuropharmacologiques et comportementaux des extraits de plantes originaires de la médecine traditionnelle marocaines, la littérature ne rapporte aucune étude sur les effets biologiques de l'espèce *Hyoscyamus muticus* du Sahara du Maroc. Dans ce travail nous avons étudié l'importance et les différentes pratiques de la phytothérapie utilisées dans le traitement de certaines maladies dans la province de Zagora, puis nous avons procédé à une évaluation expérimentale de l'effet de l'une des espèces recensées sur la douleur, l'anxiété et la dépression tout en déterminant la toxicité et la phytochimie de cette plante sélectionnée.

Pour notre premier objectif, nous avons eu recours à un questionnaire et des méthodologies adaptées pour inventorier et extraire les savoirs et les pratiques anciennes couramment utilisées par la communauté locale de la province. A l'issue de cette étude ethnopharmacologique, et malgré le développement socioéconomique dans la province, il en ressort que la phytothérapie demeure une pratique encore largement utilisée dans le traitement de nombreuses maladies dont la douleur, l'inflammation, le diabète et la lithiase rénale. Par ailleurs, nous avons conclu que de nombreux utilisateurs et même des tradithérapeutes ignorent les quantités recommandées et aussi la majorité des participants ne connaissent pas la toxicité de certaines espèces utilisées dans la préparation des remèdes traditionnels. Cette enquête a révélé 83 espèces recensées et présumées posséder des effets thérapeutiques.

Pour vérifier certains des effets déclarés dans l'étude ethnobotanique nous avons choisi l'espèce *Hyoscyamus muticus* pour explorer l'activité neuropharmacologique et comportementale en utilisant des modèles animaux. Les études scientifiques menées sur les effets biologiques de cette plante sont très rares dans la littérature, cela nous a encouragé à évaluer l'activité antinociceptive, antioxydante, antidépressive et anxiolytique de l'extrait méthanolique de *H. muticus*.

Notre étude révèle que l'extrait méthanolique de *H. muticus* administré oralement aux souris agit favorablement sur la réduction de la sensation de la douleur chimique et thermique. L'extrait méthanolique de cette plante entraîne une réduction significative du temps de latence dans le test de la plaque chauffante, la réduction de nombre de contorsions dans le test de l'acide acétique et le temps de léchage de la patte injectée par le formalin dans le test au formalin. Dans

le même objectif nous avons vérifié l'implication des récepteurs opioïdiques et muscariniques dans l'effet antinociceptif observé. Pour cela nous avons traité les animaux préalablement par la naloxone ou l'atropine qui bloquent les successivement les récepteurs opioïdiques et muscariniques. Les résultats obtenus indiquent que l'extrait agit sur les deux types des récepteurs pour atténuer la douleur.

Sur un autre volet de cette étude nous avons vérifié le potentiel effet sur l'anxiété et la dépression. A cet égard, il apparaît que l'extrait méthanolique de *Hyoscyamus muticus* améliore l'activité des animaux dans les tests de comportement notamment le test de la chambre claire/sombre, le test de croix surélevés, test de la suspension caudale, le test de la nage forcée et le test du champ ouvert. Ces observations indiquent que MEHM possède un effet anxiolytique et antidépresseur remarquable chez les souris. L'étude phytochimique et la quantification des polyphénols totaux de l'extrait indiquent que l'extrait est très riche en métabolites secondaires, ce qui peut influencer les différents systèmes de l'organisme. Les effets centraux observés seraient du probablement à la présence des alcaloïdes de types tropaniques.

L'originalité de ce travail réside dans l'élaboration des informations liées à la toxicité et l'activité neuropharmacologique de *Hyoscyamus muticus* du Maroc. Ainsi, cette étude a pu apporter de nouvelles données toxicologiques liées à cette espèce et a permis pour la première fois de déterminer la dose létale de l'extrait de *H. muticus* administré par les deux voies : intrapéritonéale et orale. Notre travail a apporté de nouvelles données concernant l'utilisation de la plante *Hyoscyamus muticus* et élucidé une partie de leur mécanisme d'action pharmacologique sur la douleur. Les résultats obtenus pourraient servir pour l'élaboration d'autres travaux de recherches visant l'exploration des mécanismes approfondies pour une meilleure compréhension de l'action neuropharmacologique et comportementale de l'extrait. Les principales perspectives de recherche qui apparaissent à l'issue de ce travail se résument dans les points suivants :

- Elaborer des épaissements de l'extrait, vérifier l'effet de chaque fraction ainsi que d'identifier la structure chimique de chaque composé et déterminer la relation entre les métabolites et les effets observés.
- Etudier l'effet anti-inflammatoire de l'extrait en utilisant des tests *in vivo* et *in vitro*.
- Initier des recherches sur d'autres mécanismes moléculaires qui pourraient être impliqués dans l'effet analgésique observé.

- Chercher les mécanismes centraux responsables de l'effet antidépresseur et anxiolytique de l'extrait de la plante de *Hyoscyamus* pourrait avoir un intérêt clinique important.
- Réaliser des dosages des neurotransmetteurs impliqués dans la dépression et l'anxiété après l'administration de l'extrait.
- Evaluer l'effet chronique de l'extrait aux différentes doses sur des modèles animaux de la dépression et de l'anxiété.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

. A.

Abelaira, H. M., Réus, G. Z., et Quevedo, J. (2013). Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. *Brazilian Journal of Psychiatry*, 35(2), S112-S120. <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2013-1098>

Abdel-Motaal, F. F., Nassar, M. S., El-Zayat, S. A., El-Sayed, M. A., et Ito, S. I. (2010). Antifungal activity of endophytic fungi isolated from Egyptian henbane (*Hyoscyamus muticus* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 42(4), 2883-2894.

Abdel Motaal, A., Ezzat, S. M., Tadros, M. G., et El-Askary, H. I. (2016). In vivo anti-inflammatory activity of caffeoylquinic acid derivatives from *Solidago virgaurea* in rats. *Pharmaceutical biology*, 54(12), 2864-2870. <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1190381>

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

Abramson, S. B., et Howard, R. (2012). Aspirin: Mechanism of action, major toxicities, and use in rheumatic diseases. *UptoDate, Waltham (MA). Published Online.*

Adamse, P., Van Egmond, H. P., Noordam, M. Y., Mulder, P. P. J., et De Nijs, M. (2014). Tropane alkaloids in food: poisoning incidents. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 6(1), 15-24. <https://doi.org/10.3920/QAS2013.0314>

Adebayo, S. A., Dzeyem, J. P., Shai, L. J., et Eloff, J. N. (2015). The anti-inflammatory and antioxidant activity of 25 plant species used traditionally to treat pain in southern African. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 1-10.

Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., & Lomri, A. (2007). Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydes dismutases : rôle dans les maladies rhumatismales. *Revue Du Rhumatisme*, 74(7), 636–643. Doi : 10.1016/j.rhum.2006.12.009.

Agbokou, C., et Fossati, P. (2008). Traitements médicamenteux de la dépression. *La Presse Médicale*, 37(5), 867–875. Doi: 10.1016/j.lpm.2008.01.012

Agoussine, M., Saidi, M. E., et Igmoullan, B. (2004). Reconnaissance des ressources en eau du bassin d'Ouarzazate (Sud-Est marocain). *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Terre*, 26, 81-92.

Ahmed, T. S., Magaji, M. G., Yaro, A. H., Musa, A. M., et Adamu, A. K. (2011). Aqueous methanol extracts of *Cochlospermum tinctorium* (A. Rich) possess analgesic and anti-

inflammatory activities. *Journal of Young Pharmacists*, 3(3), 237-242. <https://doi.org/10.4103/0975-1483.83774>

Ait El cadi, M., Makram, S., Ansar, M., Khabbal, Y., Alaoui, K., Faouzi, M.A., et al. (2012). Anti-inflammatory activity of aqueous and ethanolic extracts of *Zygophyllum gaetulum L.* *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 70, 113-116. Doi : 10.1016/j.pharma.2011.11.004.

Al-Ashaal, H. A., Aboutabl, M. E., Maklad, Y. A., et El-Beih, A. A. (2013). Tropane alkaloids of *Atropa belladonna* (L.): in vitro production and pharmacological profile. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 12(2), 130. Doi : 10.4103/1687-4315.124012

Alia, T., N, M., S, B., O. E. K, S., et F, M. (2021). Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera L.*) variété Ghars. *Annals of Science and Technology*, 2(2), 8. <https://journals.univ-ouargla.dz/index.php/AST/article/view/1309>.

Burton, A., Smith, M., et Falkenberg, T., (2015). Building WHO's global Strategy for Traditional Medicine. *European Journal of Integrative Medicine*, 7:13–15. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2014.12.007>

Alimohammadi, S., Hobbenaghi, R., Javanbakht, J., Kheradmand, D., Mortezaee, R., Tavakoli, M., et al. (2013). Protective and antidiabetic effects of extract from *Nigella sativa L.* on blood glucose concentrations against streptozotocin (STZ)-induced diabetic in rats: an experimental study with histopathological evaluation. *Diagnostic pathology*, 8(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-8-137>

Almeida, T. F., Roizenblatt, S., et Tufik, S. (2004). Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. *Brain research*, 1000(1-2), 40-56. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.10.073>

Al-Said, M. S. (1993). Traditional medicinal plants of Saudi Arabia. *The American journal of Chinese medicine*, 21(03n04), 291-298. <https://doi.org/10.1142/S0192415X93000340>

Al-Yahya, M. A, AL-Farhan, A. H., et Adam, S.E., (2000). Preliminary toxicity study on the individual and combined effect of *Citrullus colocynthis* and *Nerium oleander L.* in rats. *Fitoterapia*, 71 : 385-391. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(00\)00135-0](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(00)00135-0)

Amoateng, P., Quansah, E., Karikari, T. K., Asase, A., Osei-Safo, D., Kukuia, K. K. E., et al. (2018). Medicinal plants used in the treatment of mental and neurological disorders in Ghana. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1: 14. doi:10.1155/2018/8590381.

Ayari-Guentri, S., Djemouai, N., Gaceb-Terrak, R., et Rahmania, F. (2017). Chemical composition and antioxidant activity of *Hyoscyamus muticus L.* subsp. *falezlez* (Coss.) Maire from Algeria. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 20(5), 1370-1379. Doi: 10.1080/0972060X.2017.1396930

Azzi, A. (2007). Molecular mechanism of α -tocopherol action. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(1), 16-21.

. B.

Bailey, K. R., et Crawley, J. N. (2009). Anxiety-related behaviors in mice. In J. J. Buccafusco (Ed.), *Methods of behavioral analysis in neuroscience*. CRC Press/Routledge/Taylor & Francis Group, pp. 77–101.

Bandaruk, Y., Mukai, R., Kawamura, T., Nemoto, H., et Terao, J. (2012). Evaluation of the inhibitory effects of quercetin-related flavonoids and tea catechins on the monoamine oxidase-A reaction in mouse brain mitochondria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(41), 10270-10277.

Barkaoui, M., Katiri, A., Boubaker, H., et 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.

Barry, I. S., Camara, A., Samoura, A., Koïvogui, D., Koïvogui, K., Soumaoro, M., et al. (2020). Profil-anxio dépressif des patients hospitalisés pour maladies cardiovasculaires dans le service de cardiologie de l' Hôpital National Ignace Deen du Centre Hospitalier Universitaire de Conakry (CHU) au début de la pandémie de COVID-19. *PAMJ-One Health*, 3(5).

Barnes, M. J., et Powrie, F. (2009). Regulatory T cells reinforce intestinal homeostasis. *Immunity*, 31(3), 401-411. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.08.011>

Beaudeau, J.L., Peynet, J., Bonnefont-Rousselot, D., Therond, P., Delattre, J., et Legrand, A. (2006). Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 373–381. Doi :10.1016/s0003-4509(06)75332-9

Bediou, B., Saoud, M., Harmer, C., et Krolak-Salmon, P. (2009). L'analyse des visages dans la dépression [Analyzing facial expressions in depression]. *L'Évolution Psychiatrique*, 74(1), 79-91.

Beghalia, M., Ghalem, S., Allali, H., Belouatek, A., et Marouf, A. (2008). Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using Algerian medicinal plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(3), 066-070. <https://doi.org/10.5897/JMPR.9000799>

Begum, S., Saxena, B., Goyal, M., Ranjan, R., Joshi, V. B., Rao, C. V., et al. (2010). Study of anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activities of seeds of *Hyoscyamus niger L.* and isolation of a new coumarinolignan. *Fitoterapia*, 81(3), 178-184. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.08.024>

Bektaş, N., et Arslan, R. (2016). The centrally-mediated mechanisms of action of ferulic acid-induced antinociception. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 20(3). Doi : 10.12991/mpj.20162028573

Belknap, J. K., Lame, M., et Danielson, P. W. (1990). Inbred strain differences in morphine-induced analgesia with the hot plate assay: a reassessment. *Behavior genetics*, 20(2), 333-338. <https://doi.org/10.1007/BF01067800>

Bellakhdar, J. (1997). Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc : la situation actuelle, les produits, les sources du savoir (enquête ethnopharmacologique de terrain réalisé de 1969 à 1992) (Doctoral dissertation, Université Paul Verlaine-Metz). Disponible sur http://docnum.univ-lorraine.fr/public/UPVM/Theses/1997/Bellakhdar.Jamal.SMZ9708_1.pdf

Belujon, P., et Grace, A. A. (2017). Dopamine system dysregulation in major depressive disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 20(12), 1036-1046. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx056>

Bluteau, J. (2010). *Evaluation des effets de l'ajout d'interfaces haptiques sur le suivi manuel de trajectoires* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Grenoble-INPG). Disponible sur le site <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00524533/document>

Benali, T., Khabbach, A., Ennabili, A., et Hammani, K. (2017). Ethnopharmacological prospecting of medicinal plants from the Province of Guercif (NE of Morocco). *Moroccan Journal of Biology*, 14, 1-14.

Benammar, C., Baghdad, C., Belarbi, M., Subramaniam, S., Hichami A, et al. (2014). Antidiabetic and Antioxidant Activities of *Zizyphus lotus* L. Aqueous Extracts in Wistar Rats. *J Nutr Food Sci*, S8:004. Doi:10.4172/2155-9600.S8-004.

Benammi, H., El Hiba, O., Romane, A., et Gamrani, H. (2014). A blunted anxiolytic like effect of *curcumin* against acute lead induced anxiety in rat: involvement of serotonin. *Acta histochemica*, 116(5), 920-925.

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

Benkhniq, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A., et Douira, A. (2010). Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). *Acta botánica barcinonensia*, 53: 191-216. <https://raco.cat/index.php/ActaBotanica/article/view/252920>.

Benhouda, A., et Yahia, M. (2014). Corrigendum to toxicity, analgesic, and anti-pyretic activities of methanolic extract from *Hyoscyamus albus* L. leaves on albino's rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(3): 121-127. <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol6Issue3/8871.pdf>

Benkhniq, O., Ben Akka, F., Salhi, S., Fadli, M., Douira, A., et 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), 3539-68. <https://www.m.elewa.org/JAPS/2014/23.1/4.pdf>

- Benlamdini, N., Elhafian, M., Rochdi, A., et Zidane, L. (2014).** Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale du Haut Atlas oriental (Haute Moulouya). *Journal of applied biosciences*, 78, 6771-6787. Doi : 10.4314/jab.v78i1.17
- Bensekrane, B., Gallart-Mateu, D., De La Guardia, M., et Harrache, D. (2015).** Effets des extraits de noyaux de dattes *Phoenix dactylifera L.* sur la cristallisation de la brushite dans l'urine totale. *Phytothérapie*, 13(1), 2-13. <https://doi.org/10.1007/s10298-014-0901-3>
- Bennetau-Pelissero, C. (2014).** Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 151–159. Doi : 10.1016/j.cnd.2014.02.004
- Berezovskaya, I. V. (2003).** Classification of substances with respect to acute toxicity for parenteral administration. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 37(3), 139-141. <https://doi.org/10.1023/A:1024586630954>
- Berkiks, I., Boulbaroud, S., Garcia-Segura, L. M., Mesfioui, A., Ouichou, A., Mouden, S., et al. (2018).** Thymelaea lythroides extract attenuates microglial activation and depressive-like behavior in LPS-induced inflammation in adult male rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 99, 655-663. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.01.125>
- Bertin, P., et Vergne-Salle, P. (2019).** Douleur et inflammation. *Revue du Rhumatisme*, 86, A25-A29. [https://doi.org/10.1016/S1169-8330\(19\)30354-0](https://doi.org/10.1016/S1169-8330(19)30354-0)
- Bertrand, K., Ngué, D. M. N., Dufour, M., et Fallu, U. J. S. (2020).** Santé mentale et consommation de substances psychoactives (SPA) chez les jeunes : les pratiques d'intervention précoce prometteuses. https://oraprdnt.uqtr.quebec.ca/pls/public/docs/FWG/GSC/Publication/4242/174/8263/1/462607/20/O0002435900_4_juin_VF_pour_site_web_Bertrand_IP_jeunes.pdf
- Besson, J. M., et Chaouch, A. (1987).** Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiological reviews*, 67(1), 67-186. <https://doi.org/10.1152/physrev.1987.67.1.67>
- Beyer, J., Drummer, O. H., et Maurer, H. H. (2009).** Analysis of toxic alkaloids in body samples. *Forensic science international*, 185(1-3), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2008.12.006>
- Bélangier, C. (2006).** Rôle des médiateurs lipidiques dans la réaction inflammatoire chez le rat [mémoire présenté à la faculté des études supérieures en vue de l'obtention du grade de Maitre en sciences pharmaceutique, université de Montréal, canada]. https://papyrus.bib.umontreal.ca/xmlui/bitstream/handle/1866/15657/Belanger_Caroline_2006_memoire.pdf?sequence=1
- Bienvenu, T., Courtin, J., Dejean, C., Karalis, N., Chaudin, F., et Herry, C. (2018).** Modèles précliniques d'exploration des boucles fronto-limbiques. *French Journal of Psychiatry*, 1, S49. [https://doi.org/10.1016/S2590-2415\(19\)30117-5](https://doi.org/10.1016/S2590-2415(19)30117-5)

- Bioulac, B., Burbaud, P., Cazalets, J. R., et Gross, C. (2004).** Fonctions motrices. *EMC-Neurologie*, 1(3), 277-329. <https://doi.org/10.1016/j.emcn.2004.02.002>
- Bisschop, M. I., Kriegsman, D. M., Beekman, A. T., et Deeg, D. J. (2004).** Chronic diseases and depression: the modifying role of psychosocial resources. *Social science & medicine*, 59(4), 721-733. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2003.11.038>
- Bohler, S. (2021).** Dépression : le plaisir retrouvé ?. *Cerveau Psycho*, 133(6), 7-7. <https://doi.org/10.3917/cerpsy.133.0007>
- Bouayed, J., Rammal, H., Dicko, A., Younos, C., et Soulimani, R. (2007).** Chlorogenic acid, a polyphenol from *Prunus domestica* (Mirabelle), with coupled anxiolytic and antioxidant effects. *Journal of the neurological sciences*, 262(1-2), 77-84. Doi: 10.1016/j.jns.2007.06.028
- Boulos, L. (2008).** Flora and vegetation of the deserts of Egypt. *Flora Mediterranea*, 18, 341-359. <https://www.herbmedit.org/flora/18-341.pdf>
- Boureau, F., et Doubrere, J. F. (1988).** Le concept de douleur. Du symptôme au syndrome. *Douleur et analgésie*, 1(1), 11-17. <https://doi.org/10.1007/BF03007376>
- Boureau, F., Schneid, H., Zeghari, N., Wall, R., et Bourgeois, P. (2004).** The IPSO study: ibuprofen, paracetamol study in osteoarthritis. A randomised comparative clinical study comparing the efficacy and safety of ibuprofen and paracetamol analgesic treatment of osteoarthritis of the knee or hip. *Annals of the rheumatic diseases*, 63(9), 1028-1034. <http://dx.doi.org/10.1136/ard.2003.011403>
- Bourebaba, L., Saci, S., Touguit, D., Gali, L., Terkmane, S., Oukil, N., et al. (2016).** Evaluation of antidiabetic effect of total calystegines extracted from *Hyoscyamus albus*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 82, 337-344. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.05.011>
- Bourin, M. (2013).** Bases anatomiques et neurobiologiques de l'anxiété. *PSN*, 11, 39-52. <https://doi.org/10.3917/psn.113.0039>
- Bourin, M., Masse, F., et Hascoët, M. (2005).** Evidence for the activity of lamotrigine at 5-HT1A receptors in the mouse forced swimming test. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 30(4), 275.
- Bourin, M., et Hascoët, M. (2003).** The mouse light/dark box test. *European journal of pharmacology*, 463(1-3), 55-65. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01274-3](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01274-3)
- Brod, L. M. P., Fronza, M. G., Vargas, J. P., Luedtke, D. S., Luchese, C., Wilhelm, E. A., et al. (2016).** Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of (octylseleno)-xylofuranoside in the mouse tail suspension test. *Progress in Neuro-*

Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 65, 201-207.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.10.008>

Brown, T. A., et Barlow, D. H. (2005). Dimensional versus categorical classification of mental disorders in the fifth edition of the diagnostic and statistical manual of mental disorders and beyond: comment on the special section. *Journal of abnormal psychology*, 114(4), 551.
<https://doi.org/10.1037/0021-843X.114.4.551>

Buxeraud, J., et Faure, S. (2019). Les benzodiazépines. *Actualités Pharmaceutiques*, 58(591), 24–26. Doi : 10.1016/j.actpha.2019.09.027

. C.

Cadavid, A. P. (2017). Aspirin: the mechanism of action revisited in the context of pregnancy complications. *Frontiers in immunology*, 8, 261.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.00261>

Calado, G. P., Lopes, A. J. O., Costa Junior, L. M., Lima, F. D. C. A., Silva, L. A., Pereira, W. S., et al. (2015). *Chenopodium ambrosioides* L. Reduces synovial inflammation and pain in experimental osteoarthritis. *PLoS One*, 10(11), e0141886.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141886>

Caldirola, D., Alciati, A., Riva, A., et Perna, G. (2018). Are there advances in pharmacotherapy for panic disorder: A systematic review of the past five years. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 19(12), 1357-1368. <https://doi.org/10.1080/14656566.2018.1504921>

Calvino, B. (2011). Neuromodulation-neurostimulation : physiopathologie de la douleur et cibles neurochirurgicales. *Douleurs : Evaluation-Diagnostic-Traitement*, 12(5), 224-233.
<https://doi.org/10.1016/j.douler.2011.07.008>

Calvino, B., et Grilo, R. M. (2006). Le contrôle central de la douleur. *Revue du rhumatisme*, 73(1), 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.rhum.2004.11.012>

Campos, A. I., Mulcahy, A., Thorp, J. G., Wray, N. R., Byrne, E. M., Lind, P. A., et al. (2021). Understanding genetic risk factors for common side effects of antidepressant medications. *Communications Medicine*, 1(1), 1-10.

Can, A., Dao, D. T., Arad, M., Terrillon, C. E., Piantadosi, S. C., et Gould, T. D. (2012). The mouse forced swim test. *Journal of Visualized Experiments*, (59), e3638. Doi: 10.3791/3638

Capasso, A., Omar, S., Fkih-Tetouani, S., Sorrentino, L., et Aquino, R. (1998). Properties and effects on isolated guinea-pig ileum of *Zygophyllum gaetulum* L. species endemic in Moroccan Sahara. *Pharmaceutical biology*, 36(5), 320-326.
<https://doi.org/10.1076/phbi.36.5.320.4645>

- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., et Renzi, P. (2002).** Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural brain research*, 134(1-2), 49-57. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00452-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00452-1)
- Carter, M., et Shieh, J. (2015).** Chapter 2-animal behavior. *Guide to research techniques in neuroscience*, 39e71. <https://pdfs.semanticscholar.org/bbc6/cc6ed450950b115526347ca0187356efdb20.pdf>
- Carter, G. T., Duong, V., Ho, S., Ngo, K. C., Greer, C. L., et Weeks, D. L. (2014).** Side effects of commonly prescribed analgesic medications. *Physical medicine and rehabilitation clinics of North America*, 25(2), 457-470. Doi: 10.1016/j.pmr.2014.01.007
- Chahl, L. A. (1996).** Opioid's mechanisms of action. <https://doi.org/10.18773/austprescr.1996.063>
- Chapelle, F. (2018).** 9. Phobies spécifiques. Dans : , F. Chapelle, B. Monié, S. Rusinek et R. Poinot (Dir), *Thérapies comportementales et cognitives: En 37 notions* (pp. 65-70). Paris : Dunod. <https://doi.org/10.3917/dunod.chape.2018.02.0065>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., et Chern, J. C. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Chebaibi, A., Filali, F. R., Amine, A., et Zerhouni, M. (2011).** Effet bactéricide (in vitro) des extraits aqueux des feuilles du grenadier marocain (*Punica granatum L.*) sur des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 9(3), 158-164. <https://doi.org/10.1007/s10298-011-0626-5>
- Chen, S. R., Chen, H., Yuan, W. X., Wess, J., et Pan, H. L. (2014).** Differential regulation of primary afferent input to spinal cord by muscarinic receptor subtypes delineated using knockout mice. *Journal of Biological Chemistry*, 289(20), 14321-14330. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.550384>
- Chedea, V. S., et Jisaka, M. (2013).** Lipoxygenase and carotenoids: A co-oxidation story. *African Journal of Biotechnology*, 12(20).
- Chrobok, N. L., Sestito, C., Wilhelmus, M. M., Drukarch, B., et van Dam, A. M. (2017).** Is monocyte-and macrophage-derived tissue transglutaminase involved in inflammatory processes? . *Amino Acids*, 49(3), 441-452. Doi: 10.1007/s00726-016-2334-9
- Cohen, M., Quintner, J., et van Rysewyk, S. (2018).** Reconsidering the International Association for the Study of Pain definition of pain. *Pain reports*, 3(2). Doi: 10.1097/PR9.0000000000000634

Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., et Mattei, J. (2018). The role of polyphenols in human health and food systems: A mini review. *Frontiers in nutrition*, 5, 87.
Doi: 10.3389/fnut.2018.00087

Coste, E. (2015). Trente-sept plantes chinoises (Magnoliidae, Ranunculidae, Asteridae) : caractères botaniques, étude pharmacologique et intérêt thérapeutique [thèse de doctorat, Université Montpellier 1, soutenue le 15 janvier 2015]. RechercheGate (314242871).

Craske, M. G., et Stein, M. B. (2016). Anxiety. *The Lancet*, 388(10063), 3048–3059.
doi:10.1016/s0140-6736(16)30381-6

Crawley, J., et Goodwin, F. K. (1980). Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 13(2), 167-170. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(80\)90067-2](https://doi.org/10.1016/0091-3057(80)90067-2)

Cryan, J. F., Mombereau, C., et Vassout, A. (2005). The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29(4-5), 571-625.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.009>

. D.

Dallel, R., Villanueva, L., Woda, A., et Voisin, D. (2003). Neurobiologie de la douleur trigéminal. *M/S : médecine sciences*, 19(5), 567-574. <https://id.erudit.org/iderudit/006626ar>

Dawidar, A. A. M., Abdel-Mogib, M., El-Naggar, M. E., et Mostafa, M. E. (2009). Acaricidal activity and chemical constituents of *Hyoscyamus muticus* against *Tetranychus urticae* Koch. *Revista Latinoamericana de Química*, 37(1), 45-55.

Dayer, A. (2003). Neurogenèse hippocampale et dépression : Psychiatrie. *Médecine et hygiène*, 61(2450), 1734-1736.
https://www.revmed.ch/view/808420/6443516/RMS_2450_1734.pdf

Delmas, P., et Coste, B. (2016). Bases moléculaires de la mécanosensibilité. *Douleur et Analgésie*, 29(4), 189-195. <https://doi.org/10.1007/s11724-016-0480-1>

Delorme, T. (2007). Thérapeutiques antalgiques, médicamenteuses et non médicamenteuses. *La Revue du praticien*, 57, 1599.
http://ecn.bordeaux.free.fr/ECN_Bordeaux/Mod_6_Douleur_files/RDP_2007%20antalgiques%20066.pdf

Delorme, C. (2016). Qu'est-ce qu'une douleur neuropathique ? . *Journal des Maladies Vasculaires*, 41(2), 98. <https://doi.org/10.1016/j.jmv.2015.12.040>

- Del Rocío Sevilla-González, M., Quintana-Mendoza, B. M., et Aguilar-Salinas, C. A. (2017).** Interaction between depression, obesity, and type 2 diabetes: a complex picture. *Archives of medical research*, 48(7), 582-591. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2018.02.004>
- Derraji, S., Mahassin, F., Rhalem, N., et Ouzzif, Z. (2014).** Hépatotoxicité par *Chenopodium ambrosioides* à propos de 3 observations (colligées à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat-Maroc). *Toxicologie Analytique et Clinique*, 26(3), 176-180. <https://doi.org/10.1016/j.toxac.2014.05.001>
- Descamps-Latscha, B., et Witko-Sarsat, V. (1996).** Cytokines pro-inflammatoires et cellules phagocytaires. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 36(3), 310-314. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(96\)80100-6](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(96)80100-6)
- Direction générale des collectivités locales-Ministère de l'intérieur. (2015).** Monographie générale sur la région de Draa- Tafilatet. [Consulté le 22 août 2018 sur <https://hazbane.asso-web.com/uploaded/monographie-de-la-region-de-draa-tafilalet-fr.pdf>].
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., et Rodriguez, H. (2002).** Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(11), 1102-1115. Doi:10.1016/s0891-5849(02)00826-2.
- Dobrian, A. D., Lieb, D. C., Cole, B. K., Taylor-Fishwick, D. A., Chakrabarti, S. K., et Nadler, J. L. (2011).** Functional and pathological roles of the 12- and 15-lipoxygenases. *Progress in Lipid Research*, 50(1), 115–131. Doi: 10.1016/j.plipres.2010.10.005
- Dos Santos, J., et Fleurentin, J. (1991).** L'ethnopharmacologie : une approche pluridisciplinaire. In *Ethnopharmacologie. Sources, méthodes, objectifs*, 26-39. https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_6/colloques2/010005513.pdf
- Doukkali, Z., Boudida, H., Srifi, A., Taghzouti, K., Cherrah, Y., et Alaoui, K. (2015).** Les plantes anxiolytiques au Maroc. Études ethnobotanique et ethno pharmacologique. *Phytothérapie*, 13(5), 306-313. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0921-z>
- Dubuisson, D., et Dennis, S. G. (1977).** The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, 4, 161-174. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(77\)90130-0](https://doi.org/10.1016/0304-3959(77)90130-0)
- Duivis, H. E., Vogelzangs, N., Kupper, N., De Jonge, P., et Penninx, B. W. (2013).** Differential association of somatic and cognitive symptoms of depression and anxiety with inflammation: findings from the Netherlands Study of Depression and Anxiety (NESDA). *Psychoneuroendocrinology*, 38(9),1573–1585. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.01.002>.

Dussor, G. O., Helesic, G., Hargreaves, K. M., et Flores, C. M. (2004). Cholinergic modulation of nociceptive responses in vivo and neuropeptide release in vitro at the level of the primary sensory neuron. *Pain*, 107(1-2), 22-32. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2003.09.022>

. E.

Eddouks, M., Maghrani, M., Lemhadri, A., Ouahidi, M. L., et 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(2-3), 97-103. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00164-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00164-2)

Eddouks, M., Khalidi, A., et Zeggwagh, N. A. (2009). Approche pharmacologique des plantes utilisées traditionnellement dans le traitement de l'hypertension artérielle au Maroc. *Phytothérapie*, 7(2), 122-127. <https://doi.org/10.1007/s10298-009-0373-z>

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

Eddy, N. B., et Leimbach, D. (1953). Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 107(3), 385-393.

Efron, R. (1970). The minimum duration of a perception. *Neuropsychologia*, 8(1), 57-63. [https://doi.org/10.1016/0028-3932\(70\)90025-4](https://doi.org/10.1016/0028-3932(70)90025-4)

Eidi, A., Eidi, M., et Esmaeili, E. (2006). Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 13(9-10), 624-629. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2005.09.010>

Eidi, A., Eidi, M., Haeri Rohani, A., et Basati, F. (2010). Hypoglycemic effect of ethanolic extract of *Carum carvi* L. seeds in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants*, 9(35), 106-113. Doi: <http://dorl.net/dor/20.1001.1.2717204.2010.9.35.12.2>

El Amrani, F., Rhallab, A., Alaoui, T., El Badaoui, K., et Chakir, S. (2010). Étude ethnopharmacologique de quelques plantes utilisées dans le traitement du diabète dans la région de Meknès-Tafilalet (Maroc). *Phytothérapie*, 8(3), 161-165. <https://doi.org/10.1007/s10298-010-0552-y>

El-Araby, A., et Faleh, A. (2017). Emerging rural centers, Territorial projects, regional development players and prospects. The case of the province of Zagora (Morocco). *Annals of Valahia University of Targoviste. Geographical Series*, 17(2), 170-183. Doi: 10.1515/avutgs-2017-0016

El Cadi, M. A., Makram, S., Ansar, M., Khabbal, Y., Alaoui, K., Faouzi, M. A., et al. (2012, March). Activité anti-inflammatoire des extraits aqueux et éthanolique de *Zygophyllum gaetulum*. *Annales pharmaceutiques françaises*, 70(2), 113-116.

El-Hilaly, J., Hmammouchi, M., et Lyoussi, B. (2003). Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). *Journal of Ethnopharmacology*, 86(2-3), 149-158. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00012-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00012-6)

Ellenbroek, B., et Youn, J. (2016). Rodent models in neuroscience research are it a rat race. *Disease models & mechanisms*, 9(10), 1079-1087.

Elsharkawy, E. R., Ed-dra, A., Abdallah, E. M., et Ali, A. M. (2018). Antioxidant, antimicrobial and antifeedant activity of phenolic compounds accumulated in *Hyoscyamus muticus* L. *African Journal of Biotechnology*, 17(10), 311-321.

El-Shazly, A., Tei, A., Witte, L., El-Domiaty, M., et Wink, M. (1997). Tropane alkaloids of *Hyoscyamus boveanus*, *H. desertorum*, *H. muticus* and *H. albus* from Egypt. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 52(11-12), 729-739.

El Youbi, A. E. H., Bousta, D., Jamoussi, B., Greche, H., El Mansouri, L., Benjilali, J., et al. (2012). Activités antioxydante, apoptotique et antiproliférative de *Tetraena gaetula* (Emb. & Maire) Beier & Thulin et de *Berberis hispanica* Boiss. & Reut. Originaires du Maroc. *Phytothérapie*, 10(3), 151-160.

Errajraji, A., Ouhdouch, F., et 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.

Espejo, E. F., et Mir, D. (1994). Differential effects of weekly and daily exposure to the hot plate on the rat's behavior. *Physiology & behavior*, 55(6), 1157-1162.

Etkin, N. L., et Elisabetsky, E. (2005). Seeking a transdisciplinary and culturally germane science: The future of ethnopharmacology. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1-2), 23-26.

Etkin, A., Prater, K. E., Hoeft, F., Menon, V., et Schatzberg, A. F. (2010). Failure of anterior cingulate activation and connectivity with the amygdala during implicit regulation of emotional processing in generalized anxiety disorder. *American Journal of Psychiatry*, 167(5), 545-554.

Evans, W.C., (2002). Trease and Evans Pharmacognosy. 15th.Edit. Saunders Company, London, pp: 344-346.

. F.

Fajemiroye, J. O., da Silva, D. M., de Oliveira, D. R., et Costa, E. A. (2016). Treatment of anxiety and depression: medicinal plants in retrospect. *Fundamental & clinical pharmacology*, 30(3), 198-215. <https://doi.org/10.1111/fcp.12186>

Farouk, L., Laroubi, A., Aboufatima, R., Benharref, A., et Chait, A. (2008). Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of *Peganum harmala* L.: possible mechanisms involved. *Journal of ethnopharmacology*, 115(3), 449-454. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.014>

Fava, M., et Kendler, K. S. (2000). Major depressive disorder. *Neuron*, 28(2), 335-341. Doi: 10.1016/s0896-6273(00)00112-4.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10), 863-832. <https://new.societechimiquedefrance.fr/wp-content/uploads/2019/12/2003-nov-dec-269-18-Favier.pdf>

Feinbrun-Dothan N. (1978), Flora Palaestina, Vol. 3. Jerusalem Academic Press, pp. 162-163.

Fennane, M. (1987). Etude phytoécologique des tétraclinaies marocaines (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 3).

Fillinger, C. (2017). Identification du connectome de l'aire 24 du cortex cingulaire antérieur dans le contexte du développement de phénotypes de type anxiodépressif chez la souris : implication de la voie amygdalo-cingulaire (Doctoral dissertation, Strasbourg).

Fleurentin, J. (1991). Ethnopharmacologie : sources, méthodes, objectifs : actes du 1er Colloque européen d'ethnopharmacologie, Metz, Centre Internationale des Congrès, 23-25 mars 1990. IRD Editions.

Fleurentin, J. (2012). L'ethnopharmacologie au service de la thérapeutique : sources et méthodes. *Hegel*, 2, 12-18. <https://doi.org/10.4267/2042/47400>

Fleurentin, C. (2015). Thérapeutique par les psychotropes psychédéliques (Thèse de doctorat, Université de Lorraine). Hal-open science (hal-01733191).

Fond, G., Lancon, C., Auquier, P., et Boyer, L. (2019). Prévalence de la dépression majeure en France en population générale et en populations spécifiques de 2000 à 2018 : une revue systématique de la littérature. *La Presse Médicale*. Doi: 10.1016/j.lpm.2018.12.004

Furukawa, T. A., Cipriani, A., Cowen, P. J., Leucht, S., Egger, M., et Salanti, G. (2019). Optimal dose of selective serotonin reuptake inhibitors, venlafaxine, and mirtazapine in major depression: a systematic review and dose-response meta-analysis. *The Lancet Psychiatry*, 6(7), 601-609.

. G.

- García-Mediavilla, V., Crespo, I., Collado, P. S., Esteller, A., Sánchez-Campos, S., Tuñón, M. J., et al. (2007).** The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang Liver cells. *European journal of pharmacology*, 557(2-3), 221-229. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.11.014>
- Gawade, S. (2012).** Acetic acid induced painful endogenous infliction in writhing test on mice. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 3(4), 348. Doi:10.4103/0976-500X.103699
- Gaire, B. P., et Subedi, L. (2013).** A review on the pharmacological and toxicological aspects of *Datura stramonium L.* *Journal of integrative medicine*, 11(2), 73-79. Doi: <https://doi.org/10.3736/jintegrmed2013016>
- Galanter, M. E., et Kleber, H. D. (1994).** The American psychiatric press textbook of substance abuse treatment. American Psychiatric Association. <https://psycnet.apa.org/record/1994-97669-000>
- García-Ríos, R. I., Mora-Pérez, A., González-Torres, D., de Jesús Carpio-Reyes, R., et Soria-Fregozo, C. (2019).** Anxiolytic-like effect of the aqueous extract of *Justicia spicigera* leaves on female rats: A comparison to diazepam. *Phytomedicine*, 55, 9-13. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.07.007>
- Ghasemi, T., Abnous, K., Vahdati, F., Mehri, S., Razavi, B. M., et Hosseinzadeh, H. (2015).** Antidepressant effect of *Crocus sativus* aqueous extract and its effect on CREB, BDNF, and VGF transcript and protein levels in rat hippocampus. *Drug research*, 65(07), 337-343. Doi: 10.1055/s-0034-1371876
- Ghanbari, R., El Mansari, M., et Blier, P. (2010).** Sustained administration of trazodone enhances serotonergic neurotransmission: in vivo electrophysiological study in the rat brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 335(1), 197-206. Doi: <https://doi.org/10.1124/jpet.110.169417>
- Gholami, M., Saboory, E., Mehraban, S., Niakani, A., Banihabib, N., Azad, M. R., et al. (2015).** Time dependent antinociceptive effects of morphine and tramadol in the hot plate test: Using different methods of drug administration in female rats. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 14(1), 303. PMID: 25561936
- Gilani, A. H., Khan, A. U., Raof, M., Ghayur, M. N., Siddiqui, B. S., Vohra, W., et al. (2008).** Gastrointestinal, selective airways and urinary bladder relaxant effects of *Hyoscyamus niger* are mediated through dual blockade of muscarinic receptors and Ca²⁺ channels. *Fundamental & clinical pharmacology*, 22(1), 87-99. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2007.00561.x>

Goeldner, C., Reiss, D., Wichmann, J., Meziane, H., Kieffer, B. L., et Ouagazzal, A. M. (2008). Nociceptin receptor impairs recognition memory via interaction with NMDA receptor-dependent mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase signaling in the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 28(9), 2190-2198. Doi: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3711-07.2008>

Goodwin, G. M. (2006). Depression and associated physical diseases and symptoms. *Dialogues in clinical neuroscience*, 8(2), 259. doi: 10.31887/DCNS.2006.8.2/mgoodwin

Gorfinkel, L. R., Stohl, M., et Hasin, D. (2020). Association of depression with past-month cannabis use among US adults aged 20 to 59 years, 2005 to 2016. *JAMA network open*, 3(8), e2013802-e2013802.

Gougeon, V., Morin, M., Marchand, S., et Camden, C. (2016). Facteurs psychophysiologiques qui influencent les mécanismes endogènes de la douleur. https://savoirs.usherbrooke.ca/bitstream/handle/11143/10671/Gougeon_Veronique_PhD_2017.pdf?sequence=7

Gould, T. D., Dao, D. T., et Kovacsics, C. E. (2009). The open field tests. *Mood and anxiety related phenotypes in mice*, 1-20. Doi: https://doi.org/10.1007/978-1-60761-303-9_1

Grases, F., Costa-Bauza, A., et Prieto, R. M. (2006). Renal lithiasis and nutrition. *Nutrition journal*, 5(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-5-23>

Gregoire, P. (2009). Entre alimentation, hygiène et médecine : le vocabulaire de l'administration des simples dans le livre IX des Recherches sur les plantes de Théophraste. *Mémoire : Licence langues et littératures classiques-département des Sciences de l'Antiquité*, 8-9.

Grégoire, S., Muller, É., et Marchand, F. (2010). Structures et mécanismes cérébraux impliqués dans les aspects émotionnels et cognitifs de la douleur. *Douleurs : Evaluation-Diagnostic-Traitement*, 11(4), 182-193. <https://doi.org/10.1016/j.douleur.2010.07.001>

Grillner, S., et Shik, M. L. (1973). On the descending control of the lumbosacral spinal cord from the "mesencephalic locomotor region". *Acta physiologica Scandinavica*, 87(3), 320-333. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1973.tb05396.x>

Grynkiewicz, G., et Gadzikowska, M. (2008). -Tropane alkaloids as medicinally useful natural products and their synthetic derivatives as new drugs. *Pharmacological Reports*, 60(4), 439.

Gu, L., Liu, Y. J., Wang, Y. B., et Yi, L. T. (2012). Role for monoaminergic systems in the antidepressant-like effect of ethanol extracts from *Hemerocallis citrina*. *Journal of Ethnopharmacology*, 139(3), 780-787. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.11.059>

Guerriaud, M. (2019). Les traitements pharmacologiques des troubles anxieux. *Actualités Pharmaceutiques*, 58(590), 23–26. Doi : 10.1016/j.actpha.2019.09.006

Guirimand, F., et Le Bars, D. (1996, January). Physiologie de la nociception. In *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation* (Vol. 15, No. 7, pp. 1048-1079). Elsevier Masson. [https://doi.org/10.1016/S0750-7658\(96\)89477-9](https://doi.org/10.1016/S0750-7658(96)89477-9)

Gupta, A. K., Parasar, D., Sagar, A., Choudhary, V., Chopra, B. S., Garg, R., et al. (2015). Analgesic and anti-inflammatory properties of gelsolin in acetic acid induced writhing, tail immersion and carrageenan induced paw edema in mice. *PloS one*, 10(8), e0135558. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135558>

. H.

Hammiche, V., et Maiza, K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of ethnopharmacology*, 105(3), 358-367. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.11.028>

Hammiche, V., Merad, R., et Azzouz, M. (2013). Solanacées. In *Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen* (pp. 237-263). Springer, Paris.

Handal, M., Grung, M., Skurtveit, S., Ripel, Å., et Mørland, J. (2002). Pharmacokinetic differences of morphine and morphine-glucuronides are reflected in locomotor activity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(4), 883-892. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(02\)00925-5](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(02)00925-5)

Hare, B. D., et Duman, R. S. (2020). Prefrontal cortex circuits in depression and anxiety: contribution of discrete neuronal populations and target regions. *Molecular psychiatry*, 25(11), 2742-2758. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-0685-9>

Harifi, G., Amine, M., Ait Ouazar, M., Boujemaoui, A., Ouilki, I., Rekkab, I., et al. (2013). Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the Moroccan general population: a national survey. *Pain Medicine*, 14(2), 287-292. <https://doi.org/10.1111/pme.12009>

Hayatbakhsh, M. R., Najman, J. M., Jamrozik, K., Mamun, A. A., Alati, R., et Bor, W. (2007). Cannabis and anxiety and depression in young adults: a large prospective study. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, 46(3), 408-417. <https://doi.org/10.1097/chi.0b013e31802dc54d>

HCP (Haut-commissariat au plan du Maroc), (2017). Recensement général de la population et de l'habitat de 2014 : Caractéristique démographiques et socioéconomique de la province de Zagora. <https://www.hcp.ma/draa-tafilalet/attachment/905502/>.

Hellerstein, D. J., et Flaxer, J. (2015). Vilazodone for the treatment of major depressive disorder: an evidence-based review of its place in therapy. *Core evidence*, 10, 49–62. <https://doi.org/10.2147/CE.S54075>.

Hind, S. J., Anas, F., et Lahcen, Z. (2017). Survey of ethnomedicinal plants used for the treatment of gastrointestinal disorders in Seksaoua region (western high Moroccan Atlas). *Annual Research & Review in Biology*, 1-9.

Hodge, H.C. et Sterner, J.H. (1943). Determination of substance acute toxicity by LD₅₀. *American Industrial Hygien Association*, 10: 93

Hodge, H. C., et Sterner, J. H. (1949). Tabulation of toxicity classes. *American Industrial Hygiene Association Quarterly*, 10(4), 93-96.

Hollander, E., Kaplan, A., Allen, A., et Cartwright, C. (2000). Pharmacotherapy for obsessive-compulsive disorder. *Psychiatric Clinics of North America*, 23(3), 643-656.

Holmes, A., Yang, R. J., Murphy, D. L., et Crawley, J. N. (2002). Evaluation of antidepressant-related behavioral responses in mice lacking the serotonin transporter. *Neuropsychopharmacology*, 27(6), 914-923. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(02\)00374-3](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(02)00374-3)

Hong, Y., et Abbott, F. V. (1994). Behavioural effects of intraplantar injection of inflammatory mediators in the rat. *Neuroscience*, 63(3), 827-836. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90527-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90527-4)

Hotamisligil, G. S. (2005). Role of endoplasmic reticulum stress and c-Jun NH₂-terminal kinase pathways in inflammation and origin of obesity and diabetes. *Diabetes*, 54(2), S73-S78. https://doi.org/10.2337/diabetes.54.suppl_2.S73

Houehanou Sonou, Y. C. N. (2015). Épidémiologie des facteurs de risque cardiovasculaire en population tropicale-cas du Bénin (Doctoral dissertation, Limoges).

Huang, H., Li, Y., Liang, J., et Finkelman, F. D. (2018). Molecular regulation of histamine synthesis. *Frontiers in immunology*, 9, 1392. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01392>

Hung, W. J., Chen, Z. T., et Lee, S. W. (2018). Antioxidant and lipoxygenase inhibitory activity of the kino of *Eucalyptus citriodora*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(5), 955-959. <https://www.ijpsonline.com/articles/antioxidant-and-lipoxygenase-inhibitory-activity-of-the-kino-of-ieucalyptus-citriodorai.pdf>

Hunskar, S., et Hole, K. (1987). The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, 30(1), 103-114. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(87\)90088-1](https://doi.org/10.1016/0304-3959(87)90088-1)

Hunnskaar, S., Fasmer, O. B., et Hole, K. (1985). Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *Journal of neuroscience methods*, 14(1), 69-76. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90116-5](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90116-5)

. I.

Ikeda, Y., Ueno, A., Naraba, H., et Oh-ishi, S. (2001). Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice. *Life sciences*, 69(24), 2911-2919. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(01\)01374-1](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(01)01374-1)

. J.

Jamet, A., Botturi, K., Diquet, B., et Mollimard, M. (2006). Histamine : le rôle du médiateur. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 46(5), 474-479. <https://doi.org/10.1016/j.allerg.2006.06.002>

Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., El Hilaly, J., et Eddouks, M. (2001). 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. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00289-6](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00289-6)

Jaouhari, J. T., Lazrek, H. B., Seddik, A., et Jana, M. (1999). Hypoglycaemic response to *Zygophyllum gaetulum* extracts in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of ethnopharmacology*, 64(3), 211-217. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00124-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00124-X)

Jassbi, A. R., Miri, R., Masroorbabanari, M., Asadollahi, M., Attarroshan, M., et Baldwin, I. T. (2014). HPLC-DAD-ESIMS analyses of *Hyoscyamus niger* and *H. reticulatus* for their antioxidant constituents. *Austin Chromatography*, 1(5).

Jones, P. G., et Dunlop, J. (2007). Targeting the cholinergic system as a therapeutic strategy for the treatment of pain. *Neuropharmacology*, 53(2), 197-206. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.04.002>

Julius, D., et Basbaum, A. I. (2001). Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, 413(6852), 203-210. <https://doi.org/10.1038/35093019>

Jung, J. W., et Lee, S. (2014). Anxiolytic effects of quercetin: Involvement of GABAergic System. *Journal of Life Science*, 24(3), 290-296. <https://doi.org/10.5352/JLS.2014.24.3.290>

. K.

Kadri, N., Agoub, M., El Gnaoui, S., Berrada, S., et Moussaoui, D. (2007). Prevalence of anxiety disorders: a population-based epidemiological study in metropolitan area of Casablanca, Morocco. *Annals of General Psychiatry*, 6(1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/1744-859X-6-6>

- Kandilarova, S., Stoyanov, D., Sirakov, N., Maes, M., et Specht, K. (2019).** Reduced grey matter volume in frontal and temporal areas in depression: contributions from voxel-based morphometry study. *Acta neuropsychiatrica*, *31*(5), 252-257. <https://doi.org/10.1017/neu.2019.20>
- Kashani, J. H, Husain, A., Shekim, W. O., Hodges, K. K., Cytryn, L., et McKnew, D. H. (1981).** Current perspectives on childhood depression: An overview. *The American Journal of Psychiatry*, *138*(2), 143–153. <https://doi.org/10.1176/ajp.138.2.143>
- Kellner, M. (2010).** Drug treatment of obsessive-compulsive disorder. *Dialogues in clinical neuroscience*, *12*(2), 187. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2010.12.2/mkellner>
- Kessler, R. C., et Magee, W. J. (1993).** Childhood adversities and adult depression: basic patterns of association in a US national survey. *Psychological medicine*, *23*(3), 679-690. <https://doi.org/10.1017/S0033291700025460>
- Kessler, A., et Kalske, A. (2018).** Plant secondary metabolite diversity and species interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *49*, 115-138. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062406>
- Khalki, H., Mountassir, M., Khalki, L., Selami, Y., Ouachrif, A., Aboufatima, R., et al. (2014).** Behavioral Study on Pure Nicotine and Nicotine-Minor Alkaloids of Tobacco Plant Interactions in Rat. *International Journal of Engineering Research*, *3*(2).
- Khan, F., Ahmed, F., Pushparaj, P. N., Abuzenadah, A., Kumosani, T., Barbour, E., et al. (2016).** Ajwa date (*Phoenix dactylifera L.*) extract inhibits human breast adenocarcinoma (MCF7) cells in vitro by inducing apoptosis and cell cycle arrest. *PloS one*, *11*(7), e0158963. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158963>
- Khouchlaa, A., Tijane, M., Chebat, A., Hseini, S., et Kahouadji, A. (2017).** Enquête ethnopharmacologique des plantes utilisées dans le traitement de la lithiase urinaire au Maroc. *Phytothérapie*, *15*(5), 274-287. <https://doi.org/10.1007/s10298-016-1073-4>
- Kidd, B. L., et Urban, L. A. (2001).** Mechanisms of inflammatory pain. *British journal of anaesthesia*, *87*(1), 3-11. <https://doi.org/10.1093/bja/87.1.3>
- Kim, J., Lee, K. W., et Lee, H. J. (2014).** Polyphenols suppress and modulate inflammation. *Polyphenols in Human Health and Disease*, 393–408. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398456-2.00029-3>
- Kobe, M. J., Neau, D. B., Mitchell, C. E., Bartlett, S. G., et Newcomer, M. E. (2014).** The structure of human 15-lipoxygenase-2 with a substrate mimic. *Journal of Biological Chemistry*, *289*(12), 8562-8569. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.543777>

Koga, K., Matsuzaki, Y., Honda, K., Eto, F., Furukawa, T., Migita, K., et al. (2017). Activations of muscarinic M1 receptors in the anterior cingulate cortex contribute to the antinociceptive effect via GABAergic transmission. *Molecular pain*, *13*, 1-11. <https://doi.org/10.1177/1744806917692330>

Köhler, C. A., Evangelou, E., Stubbs, B., Solmi, M., Veronese, N., Belbasis, L., et al. (2018). Mapping risk factors for depression across the lifespan: an umbrella review of evidence from meta-analyses and Mendelian randomization studies. *Journal of psychiatric research*, *103*, 189-207. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.05.020>

Kohnen-Johannsen, K. L., & Kayser, O. (2019). Tropane alkaloids: chemistry, pharmacology, biosynthesis, and production. *Molecules*, *24*(4), 796. <https://doi.org/10.3390/molecules24040796>

Komada, M., Takao, K., et Miyakawa, T. (2008). Elevated plus maze for mice. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (22), e1088. doi: 10.3791/1088

Kool, A., de Boer, H. J., Krüger, Å., Rydberg, A., Abbad, A., Björk, L., et al. (2012). Molecular identification of commercialized medicinal plants in Southern Morocco. *PloS one*, *7*(6), e39459. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039459>

Koster, R., Anderson, M., et De Beer, E.J., (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings* *18*, 412–416.

Kroenke, K., Spitzer, R. L., Williams, J. B., Monahan, P. O., et Löwe, B. (2007). Anxiety disorders in primary care: prevalence, impairment, comorbidity, and detection. *Annals of internal medicine*, *146*(5), 317-325.

Kukula-Koch, W. A., et Widelski, J. (2017). Alkaloids. *Pharmacognosy; Delgoda, R., Ed.; Academic Press: Boston, MA, USA*, 163–198. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802104-0.00009-3>

Kumar, A., De, T., Mishra, A., et Mishra, A. K. (2013). Oleandrin: A cardiac glycosides with potent cytotoxicity. *Pharmacognosy reviews*, *7*(14), 131. doi: 10.4103/0973-7847.120512

Kwon, K. H., Murakami, A., Tanaka, T., et Ohigashi, H. (2005). Dietary rutin, but not its aglycone quercetin, ameliorates dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in mice: attenuation of pro-inflammatory gene expression. *Biochemical pharmacology*, *69*(3), 395-406. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.10.015>

. L.

Lahouel, M., Amedah, S., Zellagui, A., Touil, A., Rhouati, S., et Benyache, F. (2006). The interaction of new plant flavonoids with rat liver mitochondria: relation between the anti- and pro-oxidant effect and flavonoids concentration. *Therapies*, *61*(4), 347-355.

Lahsissène, H., Kahouadji, A., Tijane, M., Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia*, 186, 1-27.

Lanfumey, L., et Hamon, M. (2005). Approche neurobiologique de la dépression : nouvelles données. *Therapies*, 60(5), 431-440. <https://doi.org/10.2515/therapie:2005064>

Lapa, F. D. R., Gadotti, V. M., Missau, F. C., Pizzolatti, M. G., Marques, M. C. A., Dafré, A. (2009). Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract and the flavonoid rutin obtained from *Polygala paniculata* L. in mice. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 104(4), 306-315. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2008.00365.x>

Le Bars, D., et Willer, J. C. (2004). Physiologie de la douleur. *EMC-Anesthésie-Réanimation*, 1(4), 227-266. <https://doi.org/10.1016/j.emcar.2004.08.001>

Le Bars, D., Gozariu, M., et Cadden, S. W. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacological reviews*, 53(4), 597-652.

Lee, T. P., Matteliano, M. L., et Middleton Jr, E. (1982). Effect of quercetin on human polymorphonuclear leukocyte lysosomal enzyme release and phospholipid metabolism. *Life sciences*, 31(24), 2765-2774. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(82\)90723-8](https://doi.org/10.1016/0024-3205(82)90723-8)

Leopoldini, M., Russo, N., et Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288-306.

Leussis, M. P., et Bolivar, V. J. (2006). Habituation in rodents: a review of behavior, neurobiology, and genetics. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 30(7), 1045-1064. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.03.006>

Lezak, K. R., Missig, G., et Carlezon Jr, W. A. (2017). Behavioral methods to study anxiety in rodents. *Dialogues in clinical neuroscience*, 19(2), 181. <https://dx.doi.org/10.31887%2FDCNS.2017.19.2%2Fwcarlezon>

Llorca, P. M., Reine, G., et Wolf, M. A. (1993). Mécanisme d'action des antidépresseurs. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 38(10), 649-656. <https://doi.org/10.1177%2F070674379303801005>

Li, R., Liu, Z., Pan, Y., Chen, L., Zhang, Z., et Lu, L. (2014). Peripheral nerve injuries treatment: a systematic review. *Cell biochemistry and biophysics*, 68(3), 449-454.

Liang, Y., Yang, X., Zhang, X., Duan, H., Jin, M., et Sun, Y. (2016). Antidepressant-like effect of the saponins part of ethanol extract from SHF (Suanzaorenhehuan Formula). *Journal of ethnopharmacology*, 191, 307-314. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.044>

Liou, J. R., El-Shazly, M., Du, Y. C., Tseng, C. N., Hwang, T. L., et Chuang, Y. L. (2013). 1, 5-Diphenylpent-3-en-1-ynes and methyl naphthalene carboxylates from *Lawsonia inermis* and

their anti-inflammatory activity. *Phytochemistry*, 88, 67-73.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.11.010>

Lončarić, M., Strelec, I., Moslavac, T., Šubarić, D., Pavić, V., et Molnar, M. (2021). Lipoxygenase Inhibition by Plant Extracts. *Biomolecules*, 11(2), 152.

. M.

Madden, K., Flowers, L., Salani, R., Horowitz, I., Logan, S., Kowalski, K., et al. (2009). Proteomics-based approach to elucidate the mechanism of antitumor effect of curcumin in cervical cancer. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*, 80(1), 9-18.
<https://doi.org/10.1016/j.plefa.2008.10.003>

Marelli, S., Castelnovo, A., Somma, A., Castronovo, V., Mombelli, S., Bottoni, D., et al. (2021). Impact of COVID-19 lockdown on sleep quality in university students and administration staff. *Journal of Neurology*, 268(1), 8-15. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00415-020-10056-6>

Martínez-Colón, G. J., et Moore, B. B. (2018). Prostaglandin E2 as a regulator of immunity to pathogens. *Pharmacology & therapeutics*, 185, 135-146.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.12.008>

Massinissa, Yahya. (2018). *Investigation des Mécanismes Moléculaires d'induction de la cytotoxicité de l'extrait méthanolique de la plante : Hyoscyamus Albus L* (Thèse de doctorat, Université de Batna 2). <http://eprints.univ-batna2.dz/id/eprint/1664>

Masuoka, N., Matsuda, M., et Kubo, I. (2012). Characterisation of the antioxidant activity of flavonoids. *Food chemistry*, 131(2), 541-545. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.020>

Mathy-Hartert, M., Hogge, L., Sanchez, C., Deby-Dupont, G., Crielaard, J. M., et Henrotin, Y. (2008). Interleukin-1 β and interleukin-6 disturb the antioxidant enzyme system in bovine chondrocytes: a possible explanation for oxidative stress generation. *Osteoarthritis and cartilage*, 16(7), 756-763. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2007.10.009>

McCarberg, B., et Peppin, J. (2019). Pain pathways and nervous system plasticity: learning and memory in pain. *Pain Medicine*, 20(12), 2421-2437. <https://doi.org/10.1093/pm/pnz017>

McNamara, C. R., Mandel-Brehm, J., Bautista, D. M., Siemens, J., Deranian, K. L., et Zhao, M. (2007). TRPA1 mediates formalin-induced pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(33), 13525-13530. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705924104>

Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428-435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>

Meiouet, F., El Kabbaj, S., et Daudon, M. (2011). Étude in vitro de l'activité litholytique de quatre plantes médicinales vis-à-vis des calculs urinaires de cystine. *Progrès en urologie*, 21(1), 40-47. <https://doi.org/10.1016/j.purol.2010.05.009>

Melzack, R., et Casey, K. L. (1968). Sensory, motivational, and central control determinants of pain: a new conceptual model. *The skin senses*, 1, 423-43.

Messlinger, K. (1996). Functional morphology of nociceptive and other fine sensory endings (free nerve endings) in different tissues. *Progress in brain research*, 113, 273-298.

Millan, M. J. (1999). The induction of pain: an integrative review. *Progress in neurobiology*, 57(1), 1-164. [https://doi.org/10.1016/S0301-0082\(98\)00048-3](https://doi.org/10.1016/S0301-0082(98)00048-3)

Mitchell, J. A., et Kirkby, N. S. (2018). Eicosanoids, prostacyclin, and cyclooxygenase in the cardiovascular system. *British Journal of Pharmacology*. doi:10.1111/bph.14167

Moradi, M., Ghosian, M. H., et Yaghout Poor, E. (2012). Assessment of *Hyoscyamus niger* seeds alcoholic extract effects on acute and chronic pain in male NMRI rats. *Journal of Basic and Clinical Pathophysiology*, 1(1), 29-36.

Motte-Florac, E. (2002). Quelques problèmes posés par l'ethnopharmacologie et la recherche pharmaceutique sur les substances naturelles. *Journal des anthropologues. Association française des anthropologues*, (88-89), 53-78. <https://doi.org/10.4000/jda.2807>

Murphy, P. B., Bechmann, S., et Barrett, M. J. (2020). Morphine. *StatPearls* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526115/>.

. N.

Nabih M. (1992). Secrets et vertus thérapeutiques des plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dans la province de Settat. (*Thèse de Pharmacie*, n° 50, Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat).

Nassar, R. M., Azoz, S. N., et Salama, A. M. (2016). Botanical Studies on Egyptian Henbane (*Hyoscyamus muticus* L.) I-Morphology of Vegetative and Reproductive Growth and Alkaloidal Content. *Current Science International*, 5 :8-25. <https://www.curreweb.com/csi/csi/2016/8-25.pdf>

Naser, P. V., et Kuner, R. (2018). Molecular, cellular and circuit basis of cholinergic modulation of pain. *Neuroscience*, 387, 135-148. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.08.049>

Niederhoffer, N., Etienne-Selloum, N., et Faure, S. (2016). Les différentes familles d'antidépresseurs. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(561), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2016.09.018>

Nkodo, J. A., et Desmidt, T. (2018). Apports de l'imagerie cérébrale dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques de la dépression du sujet âgé. *NPG Neurologie-Psychiatrie-Gériatrie*, 18(108), 360-365. <https://doi.org/10.1016/j.npg.2018.09.003>

Nworu, C. S., et Akah, P. A. (2015). Anti-inflammatory medicinal plants and the molecular mechanisms underlying their activities. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12, 52-61. Doi: 10.4314/ajtcam.v12i6.3S

. O.

O'Connor, T. M., O'Connell, J., O'Brien, D. I., Goode, T., Bredin, C. P., et Shanahan, F. (2004). The role of substance P in inflammatory disease. *Journal of cellular physiology*, 201(2), 167-180. <https://doi.org/10.1002/jcp.20061>

OECD, O. (2001). Guideline for the Testing of Chemicals. Acute Oral Toxicity E Acute Toxic Class Method: Test No-423. *Organization for Economic Cooperation and Development*. https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd_gl423.pdf

Ogunwa, T. H. (2018). Insights into interaction profile and inhibitory potential of amentoflavone with α -glucosidase, tyrosinase and 15-lipoxygenase as validated therapeutic targets. *J Syst Biol Proteome Res*, 2(1), 10-20.

Ohayon, M. M. (2004). Specific characteristics of the pain/depression association in the general population. *Journal of Clinical Psychiatry*, 65, 5-9. <https://www.psychiatrist.com/read-pdf/19886/>

Omodanisi, E. I., Aboua, Y. G., et Oguntibeju, O. O. (2017). Assessment of the anti-hyperglycaemic, anti-inflammatory and antioxidant activities of the methanol extract of *Moringa oleifera* in diabetes-induced nephrotoxic male wistar rats. *Molecules*, 22(4), 439. <https://doi.org/10.3390/molecules22040439>

Organisation mondiale de la santé (OMS). (2020, 10 octobre). Journée mondiale de la santé mentale 2020 : Agir pour la santé mentale : investissons. Extrait de <https://www.who.int/fr/campaigns/world-mental-health-day/world-mental-health-day-2020/world-mental-health-day-campaign>. [Consulté le 19-01-2022 à 23 :55].

Organisation mondiale de la santé (OMS). (2016, 13 avril). Communiqué de presse : Les investissements dans le traitement de la dépression et de l'anxiété rapportent quatre fois leur valeur. Extrait de <https://www.who.int/fr/news/item/13-04-2016-investing-in-treatment-for-depression-and-anxiety-leads-to-fourfold-return>. [Consulté le 20-01-2022 à 00 :35].

Organisation mondiale de la Santé. (2016). Rapport mondiale sur le diabète : résumé d'orientation, Geneve. Organisation mondiale de la Santé. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204875>

Organization mondiale de la santé. (2015). World health statistics 2015. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/170250>

Organisation mondiale de la Santé. (2013). *Plan d'action global pour la santé mentale 2013-2020*. Organisation mondiale de la Santé. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/89969>

Organisation Mondiale de la Santé et la fédération internationale du diabète. (2006). Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia: report of a WHO/IDF consultation. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43588>

Oneib, B., Sabir, M., Abda, N., et Ouanass, A. (2015). Epidemiological study of the prevalence of depressive disorders in primary health care in Morocco. *Journal of neurosciences in rural practice*, 6(04), 477-480. Doi: 10.4103/0976-3147.169768

Osinski, T., Lallemand, A., et Russo, T. (2017). Modulation et dérèglements neurophysiologiques des voies de la douleur. *Kinésithérapie, la Revue*, 17(186), 16-32. <https://doi.org/10.1016/j.kine.2017.02.131>

Oussama, A., Kzaiber, F., Mernari, B., Hilmi, A., Semmoud, A., et Daudon, M. (2000). Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans le Moyen Atlas marocain par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier. *Progrès en urologie*, 10(3), 404-410.

Ouarghidi, A., Martin, G. J., Powell, B., Esser, G., & Abbad, A. (2013). Botanical identification of medicinal roots collected and traded in Morocco and comparison to the existing literature. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 9(1), 1-13. Doi <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-59>

Ouhaddou, H., Boubaker, H., Msanda, F., et El Mousadik, A. (2014). An ethnobotanical study of medicinal plants of the Agadir Ida Ou Tanane province (southwest Morocco). *Journal of Applied Biosciences*, 84, 7707-7722. Doi: 10.4314/jab. v84i1.5

Ouyse, S. (2010). Evaluation of evapotranspiration variation in the Draa. *Theor. Appl. Climatol*, 39, 21-37.

. P.

Palanza, P. (2001). Animal models of anxiety and depression how are females different. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25(3), 219-233. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(01\)00010-0](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(01)00010-0)

Palazón, J., Navarro-Ocaña, A., Hernandez-Vazquez, L., et Mirjalili, M. H. (2008). Application of metabolic engineering to the production of scopolamine. *Molecules*, 13(8), 1722-1742. <https://doi.org/10.3390/molecules13081722>

- Pandey, K. B., et Rizvi, S. I. (2009).** Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(5), 270-278.
- Pandya, M., Altinay, M., Malone, D. A., et Anand, A. (2012).** Where in the brain is depression?. *Current psychiatry reports*, 14(6), 634-642. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11920-012-0322-7>
- Pappa, S., Ntella, V., Giannakas, T., Giannakoulis, V. G., Papoutsis, E., et Katsaounou, P. (2020).** Prevalence of depression, anxiety, and insomnia among healthcare workers during the COVID-19 pandemic: A systematic review and meta-analysis. *Brain, behavior, and immunity*, 88, 901-907. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.05.026>
- Park, H. K., Bae, S. R., Kim, S. E., Choi, W. S., Paick, S. H., Ho, K., et al. (2015).** The effect of climate variability on urinary stone attacks: increased incidence associated with temperature over 18 C: a population-based study. *Urolithiasis*, 43(1), 89-94. Doi : <https://doi.org/10.1007/s00240-014-0741-5>
- Patil, A. D., Patil, A. Y., et Raje, A. A. (2013).** Antidepressant like property of *Hyoscyamus niger* Linn. in mouse model of depression. *Innovations in Pharmaceuticals and Pharmacotherapy*, 1(2), 60-69.
- Paulmier, V., Fauré, M., Durand, D., Boissy, A., Cognié, J., Eschalié, A., et al. (2015).** Douleurs animales : Les mécanismes. *INRA Prod Anim*, 28 (3), 217-230. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2015.28.3.3027>
- Pehlivan, F. E. (2017).** Vitamin C: An Antioxidant Agent. *Vitamin C*. doi :10.5772/intechopen.69660
- Pelissolo, M. (2016).** Anxiété sociale et phobie sociale. *EMC-Psychiatrie*, 13(4) : 1-6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0246-1072\(16\)69634-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0246-1072(16)69634-7).
- Pérez-Cruz, K., Moncada-Basualto, M., Morales-Valenzuela, J., Barriga-González, G., Navarrete-Encina, P., Núñez-Vergara, L., et al. (2018).** Synthesis and antioxidant study of new polyphenolic hybrid-coumarins. *Arabian Journal of Chemistry*, 11(4), 525–537. doi: 10.1016/j.arabjc.2017.05.007
- Petkov, E., Nikolov, N., et Uzunov, P. (1981).** Inhibitory effect of some flavonoids and flavonoid mixtures on cyclic AMP phosphodiesterase activity of rat heart. *Planta Medica*, 43(10), 183-186. Doi: 10.1055/s-2007-971497
- Pitchot, W., Polis, M. H., Belachew, S., et Anseau, M. (2008).** Dépression et neuroplasticité. *Revue médicale de Liege*, 63, 372-377.
- Pizzagalli, D. A., et Roberts, A. C. (2022).** Prefrontal cortex and depression. *Neuropsychopharmacology*, 47(1), 225-246. Doi: 10.1038/s41386-021-01101-7.

Planchez, B., Surget, A., et Belzung, C. (2019). Animal models of major depression: drawbacks and challenges. *Journal of Neural Transmission*, 126(11), 1383-1408. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00702-019-02084-y>

Porsolt, R. D., Le Pichon, M., et Jalfre, M. L. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730-732. Doi : <https://doi.org/10.1038/266730a0>

Porsolt, R. D., Anton, G., Blavet, N., et Jalfre, M. (1978). Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European journal of pharmacology*, 47(4), 379-391. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(78\)90118-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(78)90118-8)

Prasad, S., Sung, B., et Aggarwal, B. B. (2012). Age-associated chronic diseases require age-old medicine: role of chronic inflammation. *Preventive medicine*, 54, S29-S37 <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2011.11.011>

Procházková, D., Boušová, I., et Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513-523.

Prut, L., et Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European journal of pharmacology*, 463(1-3), 3-33. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X)

. R.

Rabiei, Z., et Rabiei, S. (2017). A review on antidepressant effect of medicinal plants. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(1), 1-11. Doi: <https://doi.org/10.3329/bjp.v12i1.29184>

Radu, B. M., Osculati, A. M. M., Suku, E., Banciu, A., Tsenov, G., Merigo, F., et al. (2017). All muscarinic acetylcholine receptors (M 1-M 5) are expressed in murine brain microvascular endothelium. *Scientific reports*, 7(1), 1-15. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05384-z>

Raghuveer, I., Anurag, K., Anumalik, Y., Nitika, G., Swadesh, K., Nikhil, G., et al. (2015). Metabolites in plants and its classification. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (WJPPS)*, 4(1), 287-305.

Rainville, P. (2002). Brain mechanisms of pain affect and pain modulation. *Current opinion in neurobiology*, 12(2), 195-204. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(02\)00313-6](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(02)00313-6)

Randhawa, M. A. (2009). Calculation of LD₅₀ values from the method of Miller and Tainter, 1944. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 21(3), 184-185.

Rathee, P., Chaudhary, H., Rathee, S., Rathee, D., Kumar, V., et Kohli, K. (2009). Mechanism of Action of Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: A Review. *Inflammation & Allergy - Drug Targets*, 8(3), 229–235. Doi :10.2174/187152809788681029

Raymondjean, M. (2007). Les mécanismes de l'inflammation périphérique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2007(389), 21-28. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(07\)80058-X](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(07)80058-X).

Razack, S., Kandikattu, H. K., Venuprasad, M. P., Amruta, N., Khanum, F., Chuttani, K., et al. (2018). Anxiolytic actions of *Nardostachys jatamansi* via GABA benzodiazepine channel complex mechanism and its biodistribution studies. *Metabolic brain disease*, 33(5), 1533-1549. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11011-018-0261-z>

Renner, U. D., Oertel, R., & Kirch, W. (2005). Pharmacokinetics and pharmacodynamics in clinical use of scopolamine. *Therapeutic drug monitoring*, 27(5), 655-665.

Rentsch, D., Piguet, V., Cedraschi, C., Desmeules, J., Luthy, C., Andreoli, A., et al. (2009). Chronic pain and depression. *Revue medicale suisse*, 5(208), 1364-1369. PMID : 19626761

Rhalem, N., Khattabi, A., Soulaymani, A., Ouammi, L., et Soulaymani-Bencheikh, R. (2010). Etude rétrospective des intoxications par les plantes au Maroc : Expérience du Centre Anti-Poison et de Pharmacovigilance du Maroc (1980-2008). *Toxicologie Maroc*, 5, 5-8.

Ricciotti, E., et FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 31(5), 986-1000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>

Rousseau, L., et Bacelon, M. (2017). Facteurs psychosociaux, douleur et kinésithérapie. *Kinésithérapie, la Revue*, 17(186), 33-43. <https://doi.org/10.1016/j.kine.2017.01.009>

. S.

Saadi, B., Msanda, F., et Boubaker, H. (2013). Contributions of folk medicine knowledge in Southwestern Morocco: the case of rural communities of Imouzzer Ida Outanane Region. *International Journal of Medicinal Plant Research*, 2(1), 135-145.

Sadeghian, H., et Jabbari, A. (2015). 15-Lipoxygenase inhibitors: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 26(1), 65–88. Doi:10.1517/13543776.2016.1113259

Salari, N., Hosseinian-Far, A., Jalali, R., Vaisi-Raygani, A., Rasoulpoor, S., Mohammadi, M., ... et al. (2020). Prevalence of stress, anxiety, depression among the general population during the COVID-19 pandemic: a systematic review and meta-analysis. *Globalization and health*, 16(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12992-020-00589-w>

- Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., et Douira, A. (2010).** Floristic and ethnobotanical study of medicinal plants of Kénitra (Maroc). *Lazaroa*, *31*, 133-146. doi:10.5209/rev_LAZA.2010.v31.9
- Samad, N., Saleem, A., Yasmin, F., et Shehzad, M. A. (2018).** Quercetin protects against stress-induced anxiety-and depression-like behavior and improves memory in male mice. *Physiological research*, *67*(5). <https://doi.org/10.33549/physiolres.933776>
- Santarsieri, D., et Schwartz, T. L. (2015).** Antidepressant efficacy and side-effect burden: a quick guide for clinicians. *Drugs in context*, *4*, 212290. <https://doi.org/10.7573/dic.212290>.
- Sauvaget, A., Guitteny, M., Bukowski, N., Duffieux, V., Mezouari, A., Brisson, A., et al. (2021).** Les traitements de la dépression en psychiatrie de liaison : de la théorie à la pratique. *La Revue de Médecine Interne*, *42*(10), 694-706.
- Sarris, J. (2017).** Clinical use of nutraceuticals in the adjunctive treatment of depression in mood disorders. *Australasian Psychiatry*, *25*(4), 369-372. <https://doi.org/10.1177%2F1039856216689533>
- Sartori, S. B., Landgraf, R., et Singewald, N. (2011).** The clinical implications of mouse models of enhanced anxiety. *Future neurology*, *6*(4), 531-571. <https://doi.org/10.2217/fnl.11.34>
- Sawynok, J., et Liu, X. J. (2003).** The formalin test: characteristics and usefulness of the model. *Reviews in analgesia*, *7*(2), 145-163. <https://doi.org/10.3727/000000003783992982>
- Scapagnini, G., Davinelli, S., Drago, F., De Lorenzo, A., et Oriani, G. (2012).** Antioxidants as antidepressants. *CNS drugs*, *26*(6), 477-490. <https://doi.org/10.2165/11633190-000000000-00000>
- Scherrer, A. M., Motti, R., et Weckerle, C. S. (2005).** Traditional plant use in the areas of monte vesole and ascea, cilento national park (Campania, Southern Italy). *Journal of ethnopharmacology*, *97*(1), 129-143. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.002>
- Schmitt, C., Larché, J., Quintard, H., Bourdon, H., Tichadou, L., Lacarelle, B., et al. (2012).** Intoxication accidentelle sévère après ingestion de feuilles de *Datura stramonium*, à propos d'un cas collectif. *Annales françaises de médecine d'urgence*, *2*(2), 121-124. Doi : 10.1007/s13341-012-0174-4
- Schramm, N. L., McDonald, M. P., et Limbird, L. E. (2001).** The α 2A-adrenergic receptor plays a protective role in mouse behavioral models of depression and anxiety. *Journal of Neuroscience*, *21*(13), 4875-4882. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-13-04875.2001>
- Schreiner, M., Martínez-Abaigar, J., Glaab, J., et Jansen, M. (2014).** UV-B induced secondary plant metabolites: potential benefits for plant and human health. *Optik & Photonik*, *9*(2), 34-37.

Schofield, P., Mbugua, D. M., et Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal feed science and technology*, 91(1-2), 21-40. DOI 10.1007/s13341-012-0174-4

Schwasinger-Schmidt, T. E., et Macaluso, M. (2019). Other Antidepressants. *Handbook of experimental pharmacology*, 250, 325–355. https://doi.org/10.1007/164_2018_167

Scott, A., Khan, K. M., Roberts, C. R., Cook, J. L., et Duronio, V. (2004). What do we mean by the term “inflammation”? A contemporary basic science update for sports medicine. *British journal of sports medicine*, 38(3), 372-380. <http://dx.doi.org/10.1136/bjism.2004.011312>

Sdayria, J., Rjeibi, I., Feriani, A., Ncib, S., Bouguerra, W., Hfaiedh, N., et al. (2018). Chemical Composition and Antioxidant, Analgesic, and Anti-Inflammatory Effects of Methanolic Extract of *Euphorbia retusa* in Mice. *Pain Research and Management*, 2018, 1-11. Doi:10.1155/2018/4838413

Sengupta, T., Vinayagam, J., Nagashayana, N., Gowda, B., Jaisankar, P., et Mohanakumar, K. P. (2011). Antiparkinsonian effects of aqueous methanolic extract of *Hyoscyamus niger* seeds result from its monoamine oxidase inhibitory and hydroxyl radical scavenging potency. *Neurochemical research*, 36(1), 177-186. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11064-010-0289-x>

Sellmeijer, J., Mathis, V., Hugel, S., Li, X. H., Song, Q., Chen, Q. Y., et al. (2018). Hyperactivity of anterior cingulate cortex areas 24a/24b drives chronic pain-induced anxiodepressive-like consequences. *Journal of Neuroscience*, 38(12), 3102-3115.

Selvaraj, G., Kaliampurthi, S., Thirungnasambandam, R., Vivekanandan, L., et Balasubramanian, T. (2014). Anti-nociceptive effect in mice of thillai flavonoid rutin. *Biomed Environ Sci*, 27(4), 295-299. Doi: 10.3967/ bes2014.052

Serchov, T., van Calker, D., et Biber, K. (2016). Light/dark transition test to assess anxiety-like behavior in mice. *Bio-protocol*, 6(19), e1957-e1957. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1957>

Shaheen, H. M., Ali, B. H., Alqarawi, A. A., et Bashir, A. K. (2000). Effect of *Psidium guajava* leaves on some aspects of the central nervous system in mice. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 14(2), 107-111. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(200003\)14:2%3C107::AID-PTR602%3E3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(200003)14:2%3C107::AID-PTR602%3E3.0.CO;2-Z).

Shaw, D., Graeme, L., Pierre, D., Elizabeth, W., et Kelvin, C. (2012). Pharmacovigilance of herbal medicine. *Journal of ethnopharmacology*, 140(3), 513-518. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.01.051>

Shimada, T., Matsumoto, K., Osanai, M., Matsuda, H., Terasawa, K., et Watanabe, H. (1995). The modified light/dark transition test in mice: evaluation of classic and putative

anxiolytic and anxiogenic drugs. *General pharmacology*, 26(1), 205-210. Doi: 10.1016/0306-3623(94)00148-g

Shoib, M., Shah, S. W. A., Ali, N., Shah, I., Ullah, S., Ghias, M., et al. (2016). Scientific investigation of crude alkaloids from medicinal plants for the management of pain. *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1157-2>

Siener, R., Jahnen, A., et Hesse, A. (2004). Influence of a mineral water rich in calcium, magnesium and bicarbonate on urine composition and the risk of calcium oxalate crystallization. *European journal of clinical nutrition*, 58(2), 270-276. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601778>

Singh, G. K., Garabadu, D., Muruganandam, A. V., Joshi, V. K., et Krishnamurthy, S. (2009). Antidepressant activity of *Asparagus racemosus* in rodent models. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 91(3), 283-290. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2008.07.010>

Singleton, V. L., Orthofer, R., et Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in enzymology*, 299, 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Sirigu, A., et Zalla, T. (2005). Étude du rôle différencié de l'amygdale et du cortex ventromédian dans le traitement des émotions chez l'homme Analyse neuropsychologique, métabolique et électrophysiologique. *Rapport de fin de recherche*. https://hal.archives-ouvertes.fr/docs/.../Sirigu_COG_, 152.

Sloot, S., Boland, J., Snowden, J. A., Ezaydi, Y., Foster, A., Gethin, A., et al. (2015). Side effects of analgesia may significantly reduce quality of life in symptomatic multiple myeloma: a cross-sectional prevalence study. *Supportive Care in Cancer*, 23(3), 671-678. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00520-014-2358-1>

Sofowora, A., Ogunbodede, E., et Onayade, A. (2013). The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines*, 10(5), 210-229. DOI: 10.4314/ajtcam.v10i5.2

Souza, J. B. de, Grossmann, E., Perissinotti, D. M. N., Oliveira Junior, J. O. de, Fonseca, P. R. B. da, et Posso, I. de P. (2017). Prevalence of Chronic Pain, Treatments, Perception, and Interference on Life Activities: Brazilian Population-Based Survey. *Pain Research and Management*, 2017, 1-9. Doi:10.1155/2017/4643830

Sreekeesoon, D. P., et Mahomoodally, M. F. (2014). Ethnopharmacological analysis of medicinal plants and animals used in the treatment and management of pain in Mauritius. *Journal of ethnopharmacology*, 157, 181-200. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.09.030>

Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295.

Starcevic, V., et Castle, D. J. (2016). Anxiety Disorders. Stress: Concepts, Cognition, Emotion, and Behavior. *Handbook of Stress serie, 1*, 203–211. Doi:10.1016/b978-0-12-800951-2.00024-8

Stein, C. (2016). Opioid receptors. *Annual review of medicine*, 67, 433-451. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-062613-093100>

Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., Mico, J. A., Lenegre, A., Steru, M., et al. (1987). The automated tail suspension test: a computerized device which differentiates psychotropic drugs. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 11(6), IN1-671.

Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., et Simon, P. (1985). The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology*, 85(3), 367-370. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00428203>

Stuivenga, M., Giltay, E. J., Cools, O., Roosens, L., Neels, H., et Sabbe, B. (2019). Evaluation of vilazodone for the treatment of depressive and anxiety disorders. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 20(3), 251-260. Doi: 10.1080/14656566.2018.1549542

Szabo, S., & Nemeroff, C. (2015). Chapter 103 – Depression. In: Rosenberg RN, Pascual JM, editors Rosenberg's molecular and genetic basis of neurological and psychiatric disease. 5th ed. Academic Press; 2015. P. 1253-74.

. T.

Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z. H., et 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. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.011>

Tan, A., Schwitzer, T., Conart, J. B., et Angioi-Duprez, K. (2020). Retinal investigations in patients with major depressive disorder, bipolar disorder, or schizophrenia: A review of the literature. *Journal Francais D'ophtalmologie*, 43(7) :586-597. Doi: 10.1016/j.jfo.2019.10.029

Tatem, K. S., Quinn, J. L., Phadke, A., Yu, Q., Gordish-Dressman, H., et Nagaraju, K. (2014). Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (91). Doi: 10.3791/51785

Tayefi, M., Shafiee, M., Kazemi-Bajestani, S., Esmaceli, H., Darroudi, S., Khakpouri, S et al. (2017). Depression and anxiety both associate with serum level of hs-CRP: A gender-stratified analysis in a population-based study. *Psychoneuroendocrinology*, 81, 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2017.02.035>

Teixeira, C. P. L., de Melo, C. T. V., de Araújo, F. L. O., de Carvalho, A. M. R., Silva, M. I. G., Barbosa-Filho, J. M., et al. (2013). Antidepressant-like effect of riparin II from *Aniba riparia* in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system. *Fundamental & clinical pharmacology*, 27(2), 129-137. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2011.00973.x>

Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E. M., Garrido, J., et Borges, F. (2013). Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *BioMed Research International*, 2013, 1-11. doi:10.1155/2013/251754

Thierry, B., Steru, L., Simon, P., et Porsolt, R. D. (1986). The tail suspension test: ethical considerations. *Psychopharmacology*, 90(2), 284-285. Doi : <https://doi.org/10.1007/BF00181261>

Tian, R., Yang, W., Xue, Q., Gao, L., Huo, J., Ren, D., et al. (2016). Rutin ameliorates diabetic neuropathy by lowering plasma glucose and decreasing oxidative stress via Nrf2 signaling pathway in rats. *European journal of pharmacology*, 771, 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.12.021>

Tjølsen, A., Berge, O. G., Hunskaar, S., Rosland, J. H., et Hole, K. (1992). The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, 51(1), 5-17.

TrivellatoGrassi, L., Malheiros, A., Meyre-Silva, C., Da Silva Buss, Z., Monguilhott, E. D., Fröde, T. S., et al. (2013). From popular use to pharmacological validation: a study of the anti-inflammatory, anti-nociceptive and healing effects of *Chenopodium ambrosioides* extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(1), 127-138.

Turner, P. V., Pang, D. S., et Lofgren, J. L. (2019). A review of pain assessment methods in laboratory rodents. *Comparative medicine*, 69(6), 451-467.

. V.

Valvassori, S. S., Varela, R. B., et Quevedo, J. (2017). Animal models of mood disorders: focus on bipolar disorder and depression. In *Animal models for the study of human disease*. Academic press. 991-1001. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809468-6.00038-3>.

Vane, J. R., et Botting, R. M. (2003). The mechanism of action of aspirin. *Thrombosis research*, 110(5-6), 255-258. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90003-T](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90003-T)

Vaugeois, J. M., El Yacoubi, M., et Costentin, J. (2004, September). À propos d'un modèle animal de la dépression. *Annales pharmaceutiques françaises*, 62(5), 332-342. Doi :10.1016/s0003-4509(04)94322-2.

Vissers, M. C. M., et Das, A. B. (2018). Potential Mechanisms of Action for Vitamin C in Cancer: Reviewing the Evidence. *Frontiers in Physiology*, 9. doi:10.3389/fphys.2018.00809.

Vissiennon, C., Nieber, K., Kelber, O., et Butterweck, V. (2012). Route of administration determines the anxiolytic activity of the flavonols kaempferol, quercetin and myricetin are they prodrugs. *The Journal of nutritional biochemistry*, 23(7), 733-740. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.03.017>

. W.

Waldhoer, M., Bartlett, S. E., et Whistler, J. L. (2004). Opioid receptors. *Annual review of biochemistry*, 73(1), 953-990. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.73.011303.073940>

Walf, A. A., et Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature protocols*, 2(2), 322-328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>

Wang, D., Tawfik, V. L., Corder, G., Low, S. A., François, A., Basbaum, A. I., et al. (2018). Functional divergence of delta and mu opioid receptor organization in CNS pain circuits. *Neuron*, 98(1), 90-108. doi: <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>

Wang, S. M., Han, C., Bahk, W. M., Lee, S J., Patkar, A. A., et al. (2018). Addressing the Side Effects of Contemporary Antidepressant Drugs: A Comprehensive Review. *Chonnam Medical Journal*, 54(2), 101. Doi:10.4068/cmj.2018.54.2.101

Willain Filho, A., Cechinel Filho, V., Olinger, L., et De Souza, M. M. (2008). Quercetin: further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. *Archives of pharmacal research*, 31(6), 713-721. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12272-001-1217-2>

Wilson, M. A., Burghardt, P. R., Ford, K. A., Wilkinson, M. B., et Primeaux, S. D. (2004). Anxiolytic effects of diazepam and ethanol in two behavioral models: comparison of males and females. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 78(3), 445-458. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.04.017>

. X.

Xiao, X., Wang, X., Gui, X., Chen, L., et Huang, B. (2016). Natural flavonoids as promising analgesic candidates: a systematic review. *Chemistry & biodiversity*, 13(11), 1427-1440. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600060>

Xue, N., Wu, X., Wu, L., Li, L., et Wang, F. (2019). Antinociceptive and anti-inflammatory effect of Naringenin in different nociceptive and inflammatory mice models. *Life sciences*, 217, 148-154. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.11.013>

. Y.

Yatoo, M. I., Dimri, U., Gopalakrishnan, A., Karthik, K., Gopi, M., Khandia, R., et al. (2017). Beneficial health applications and medicinal values of *Pedicularis* plants: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *95*, 1301-1313.

Yam, M. F., Loh, Y. C., Tan, C. S., Khadijah Adam, S., Abdul Manan, N., et Basir, R. (2018). General pathways of pain sensation and the major neurotransmitters involved in pain regulation. *International journal of molecular sciences*, *19*(8), 2164. <https://doi.org/10.3390/ijms19082164>

Yrondi, A. (2018). Altérations fronto-limbiques dans la dépression. *French Journal of Psychiatry*, *1*, S49. [https://doi.org/10.1016/S2590-2415\(19\)30118-7](https://doi.org/10.1016/S2590-2415(19)30118-7)

. Z.

Zakaria, Z. A., Abdul Rahim, M. H., Roosli, R. A. J., Mohd Sani, M. H., Omar, M. H., Othman, F., et al. (2018). Antinociceptive Activity of Methanolic Extract of *Clinacanthus nutans* Leaves: Possible Mechanisms of Action Involved. *Pain Research and Management*, *2018*, 1–15. doi:10.1155/2018/9536406

Zeggwagh, A. A., Lahlou, Y., et Bousliman, Y. (2013). Enquete sur les aspects toxicologiques de la phytothérapie utilisée par un herboriste à Fes, Maroc [Survey of toxicological aspects of herbal medicine used by an herbalist in Fes, Morocco]. *The Pan African medical journal*, *14*, 125. <https://doi.org/10.11604/pamj.2013.14.125.1746>

Zhang, J. M., et An, J. (2007). Cytokines, inflammation, and pain. *International anesthesiology clinics*, *45*(2), 27. <https://dx.doi.org/10.1097%2FAIA.0b013e318034194e>

Zheng, P., Wang, Y., Chen, L., Yang, D., Meng, H., Zhou, D., et al. (2013). Identification and validation of urinary metabolite biomarkers for major depressive disorder. *Molecular & Cellular Proteomics*, *12*(1), 207-214. Doi: <https://doi.org/10.1074/mcp.M112.021816>

Zheng, M., Fan, Y., Shi, D., et Liu, C. (2013). Antidepressant-like effect of flavonoids extracted from *Apocynum venetum* leaves on brain monoamine levels and dopaminergic system. *Journal of Ethnopharmacology*, *147*(1), 108-113. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.02.015>

Zhuo, M., et Gebhart, G. F. (1991). Tonic cholinergic inhibition of spinal mechanical transmission. *Pain*, *46*(2), 211-222. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(91\)90078-C](https://doi.org/10.1016/0304-3959(91)90078-C)

Zimmerman, M., Kerr, S., Kiefer, R., Balling, C., et Dalrymple, K. (2019). What is anxious depression? Overlap and agreement between different definitions. *Journal of psychiatric research*, *109*, 133-138. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2018.11.028>

Ziyyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni, M., et Benjelloun, W. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of ethnopharmacology*, 58(1), 45-54. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00077-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00077-9)

Zuckerman, B., Amaro, H., Bauchner, H., et Cabral, H. (1989). Depressive symptoms during pregnancy: relationship to poor health behaviors. *American journal of obstetrics and gynecology*, 160(5), 1107-1111. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(89\)90170-1](https://doi.org/10.1016/0002-9378(89)90170-1)



Annexe 1

Questionnaire

Dans le cadre d'une étude ethnopharmacologique au sein de la population de Zagora, nous souhaiterons recueillir des informations sur les PMs utilisées dans le traitement de la douleur, l'inflammation, le diabète et les plantes possédant des effets hallucinogènes.

INFORMATIONS GÉNÉRALES SUR LE PARTICIPANT

Commune : Age : Sexe : F / M

Niveau académique :

Néant		Primaire		Secondaire		Universitaire	
-------	--	----------	--	------------	--	---------------	--

Données sur la santé du participant :

INFORMATIONS SUR LES PLANTES UTILISÉES

Nom vernaculaire :

Nom scientifique :

Effet thérapeutique de la plante :

Anti-inflammatoire		Analgésique		Anti-diabétique		Anti-urolithiasique		Hallucinogène	
--------------------	--	-------------	--	-----------------	--	---------------------	--	---------------	--

Source d'obtention de la plante utilisée :

Plante entière		Feuilles		Fruits		Tige		Ecorce		Graine		Rhizome		Bulbe	
----------------	--	----------	--	--------	--	------	--	--------	--	--------	--	---------	--	-------	--

Forme d'emploi :

Fraiche		Poudre		Huilles essentielles		Huilles grasses	
---------	--	--------	--	----------------------	--	-----------------	--

Mode de préparation

Infusion		Décoction		Cataplasme		Cuit	
----------	--	-----------	--	------------	--	------	--

Mode d'administration

Oral		Inhalation		Massage		Autres :
------	--	------------	--	---------	--	----------------

Dose utilisée

Pincée		Poignée		Cuillerée		Quantité g/verre		Quantité en g/l	
--------	--	---------	--	-----------	--	------------------	--	-----------------	--	-------

Nombre de prise par jour :

Durée de traitement :

Un jour		Une semaine		Un mois		Jusqu'à la guérison
---------	--	-------------	--	---------	--	---------------------

Efficacité de la plante :

Très efficaces		Amélioration de la situation		Pas d'effet	
----------------	--	------------------------------	--	-------------	--

Pourquoi vous avez choisi l'utilisation des PMs à la place des médicaments

Très efficaces		Amélioration de la situation		Pas d'effet	
----------------	--	------------------------------	--	-------------	--

Information sur la toxicité de la plante utilisée :

OUI		NON	
-----	--	-----	--

Si OUI :

D'autres informations supplémentaires sur la ou les plantes utilisées :

Annexe 2

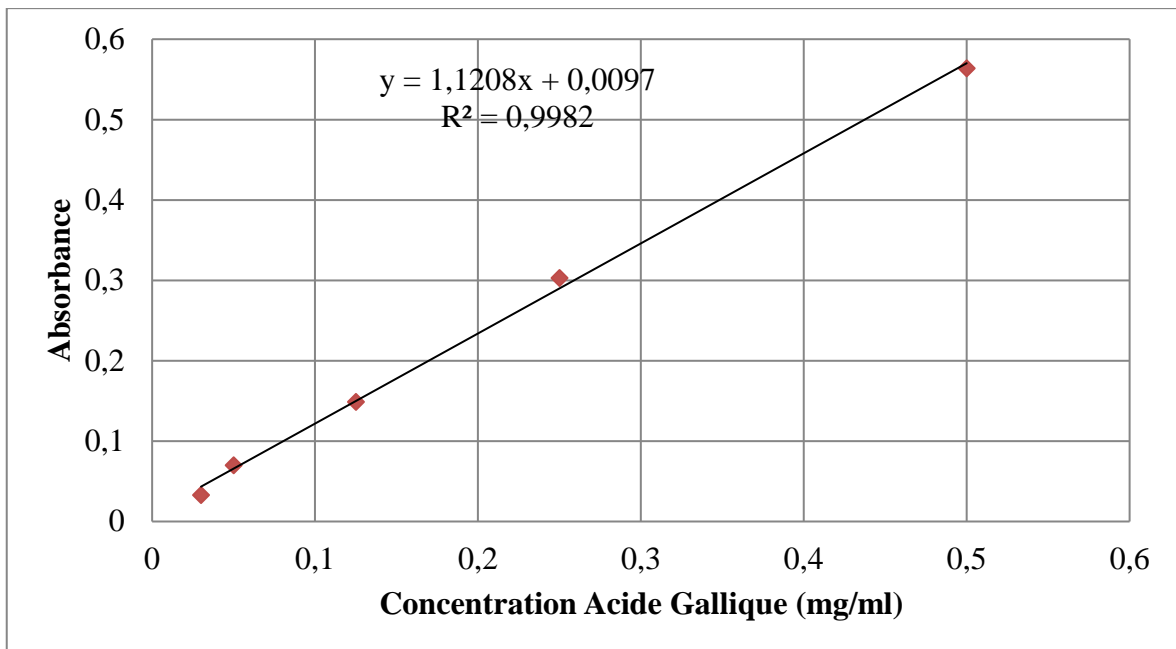


Figure 1: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique utilisée dans le dosage des polyphénols.

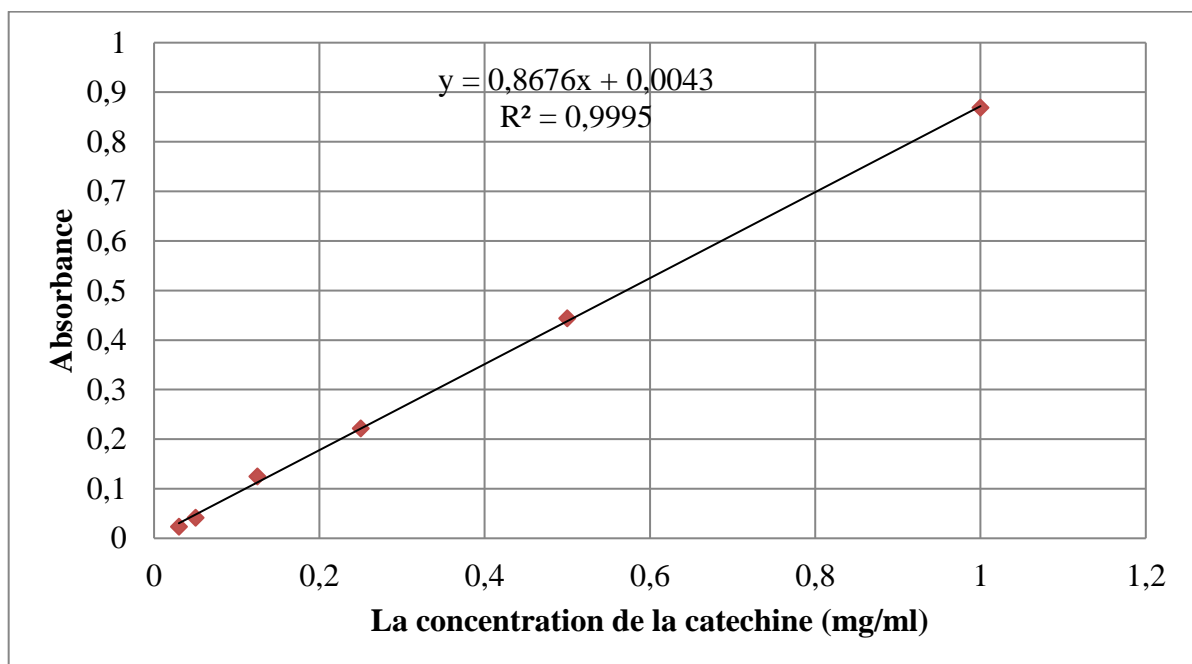


Figure 2: Courbe d'étalonnage de la catéchine utilisée dans le dosage des flavonoïdes totaux.

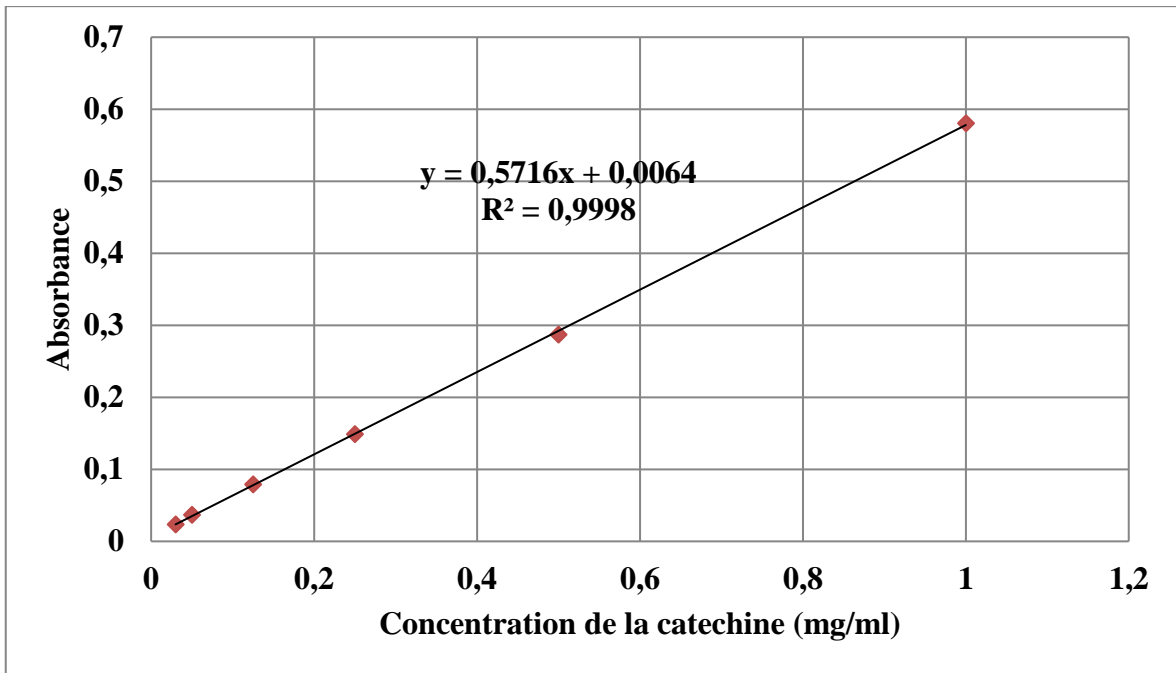


Figure 3: Courbe d'étalonnage de la catéchine utilisée pour le dosage des tannins.