

N° d'ordre : 3476

THESE

En vue de l'obtention du : DOCTORAT Centre de Recherche: Biodiversité
Biotechnologie Végétale et Microbienne, Biodiversité et Environnement
Structure de Recherche: Laboratoire de Biologie des Pathologies Humaines
Discipline: Biologie
Spécialité: Biochimie ; Ethnopharmacologie

Présentée et soutenue le : 12/06/2021 par :

EL YAHYAOUI EL IDRISI Amina

Le titre de la thèse

**Étude ethnobotanique, phytochimique et des activités biologiques
d'*Aristolochia longa* et son champignon endophyte**

JURY

DAKKA Nadia	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Présidente
ES-SAFI Nourdine	PES	Ecole Normale Supérieure, Rabat, Université Mohammed V de Rabat	Examineur
MISSBAH Mustapha	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Examineur
RAHOUTI Mohammed	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Rapporteur
EL ABBES Faouzi	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat	Rapporteur
ELHASSANE Abdennebi	PES	Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Rabat	Rapporteur
TIJANE M'hamed	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Invité
BAKRI Youssef	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V de Rabat	Directeur de Thèse

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

À notre Présidente de jury, *Madame Dakka Nadia*, professeur d'enseignement supérieur, faculté des sciences Rabat. Nous vous adressons ici tous nos remerciements pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du Jury, ainsi que pour la bienveillance et pour les enseignements reçus durant vos cours à la faculté.

Je tiens à remercier profondément *Monsieur BAKRI Youssef*, professeur d'enseignement supérieur et Directeur du centre des études doctorales Faculté des Sciences Rabat, pour toute l'attention, la générosité de cœur, l'accueil dans votre structure, votre direction de ce travail, vos conseils, votre soutien, votre disponibilité que j'ai reçu en toute circonstance avec sourire et bienveillance. Je tiens à vous remercier sincèrement pour les facilités qui vous m'a offertes pour dépasser les moments difficiles et surtout votre caractère amical tout au long de la réalisation de ce travail.

J'adresse également mes vifs remerciements à Monsieur le Professeur *TIJANE M'hamed*, de m'avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail. Merci également pour vos précieux conseils et votre disponibilité durant la préparation de cette thèse, ainsi que pour votre enseignement à la faculté,

Je remercie respectueusement *Monsieur El Abbes Faouzi*, Professeur de l'enseignement supérieur (Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat pharmacologie) et *Monsieur El Hassane Abdennebi*, professeur d'enseignement supérieur, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II (Département de Biologie et Sciences pharmaceutiques), pour avoir aimablement accepté de se consacrer à la lecture de mon manuscrit et d'en être les rapporteurs.

*Mes sincères remerciements et profond gratitude s'adresse à **Monsieur Rahouti Mohammed**, professeur d'enseignement supérieur, faculté des sciences Rabat. Je tiens aussi à le remercier d'avoir fait l'honneur d'accepter de juger et d'être rapporteur de cette thèse.*

*J'exprime toute ma gratitude à **Monsieur Missbah Mustapha**, professeur d'enseignement supérieur, faculté des sciences Rabat, d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Qu'il me soit permis de remercier vivement **Monsieur Es-safi Nourdine**, Professeur de l'enseignement supérieur (Ecole Normale Supérieure). Vous avez eula gentillesse d'examiner cette thèse. Je tiens à vous faire part de ma respectueuse gratitude.*

*Je remercie **Monsieur TALBAOUI Ahmed**, professeur assistant faculté des sciences Rabat, pour la réalisation de certaines étapes de ce travail.*

*Je remercie mes collègues du Laboratoire de Biologie des Pathologies Humaines dans l'Unité de Formation et de Recherche Biochimie-Immunologie à la Faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V, plus particulièrement **Dr khouchlaa Aya**, **Dr Abdeslam ET-Touys**, **Monsieur Bouyahya Abdelhakim** et **Dr El Fessikh Meriem** pour leur esprit d'équipe, leur aide, leur bonne humeur. Je garderai un doux souvenir du temps qu'on a partagé durant ses années passées ensemble.*

Je remercie également les membres administratifs de la faculté des sciences de Rabat pour leur aide précieuse.

Enfin, pour tous ceux et toutes celles qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements.

Table des matières

Introduction générale	13
Partie I : Étude bibliographique	3
Chapitre I : utilisation des plantes médicinales dans la médecine traditionnelle.....	4
1. Les plantes médicinales.....	4
1.1. Historique de la relation de l'homme avec les plantes médicinales	4
1.2 Les premières traces de l'utilisation de plantes médicinales au Maroc.....	4
1.3 L'utilisation des plantes médicinales au Maroc	5
2. Médecine traditionnelle et complémentaire	6
1.1 Médecine traditionnelle.....	6
1.2 Médecine complémentaire (MC)	7
Chapitre II : Phytothérapie.....	8
1. Généralités.....	8
2. Mode de préparation des plantes médicinales	9
3. Différents groupes des principes actifs des extraits des plantes médicinales	10
3.1. Terpènes	10
3.1.1. Définition	10
3.1.2. Classification des terpènes	11
3.2. Polyphénols	11
1.3 Acides phénoliques	12
1.4 Flavonoïdes	12
Chapitre III : Propriétés biologiques des plantes médicinales.....	14
1. Activité antibactérienne des plantes médicinales du Maroc	14
1.1 Action des agents antimicrobiens	14
1.2 La résistance bactérienne	16
3. Activité anticancéreuse de quelque plantes médicinales.....	18
4. Mécanismes d'action anticancéreux des plantes médicinales.....	20
5. Activité antioxydante	21
Chapitre IV : La plante <i>Aristolochia Longa</i>.....	22
1. Présentation de la plante	22
2. Partie toxique de la plante	25
3. Étude de la toxicité	25
Chapitre V : Le champignon endophytique des plantes <i>Aristolochia sp</i>.....	26

1. Introduction	26
2. Les champignons endophytiques	27
3. Interaction entre les champignons endophytiques et la plante hôte	27
4. Les molécules d'intérêt thérapeutique produites par les champignons endophytes.....	27
Partie II : Matériel et Méthodes.....	28
Étude ethnobotanique de la Plante d'<i>Aristolochia longa</i> (<i>Bereztem</i>) utilisée dans le traitement de certaines maladies dans les villes de Rabat, Salé et Témara (Maroc).	29
Isolement et purification du champignon endophytique des plantes <i>Aristolochia sp</i>	31
1. Identification par la biologie moléculaire	31
3. Les composés isolés du champignon endophytique <i>fusarium tricinctum</i>	31
Ethnobotanique, notes phytochimiques et propriétés antiproliférative, antibactérienne d'<i>Aristolochia longa</i>	32
2. La phytothérapie de la plante <i>Aristolochia Longa</i>	35
Le risque des intoxications par les plantes les plus utilisées en phytothérapie au Maroc	37
Dosage des polyphénols, flavonoïdes et activité antioxydante.....	38
1. Matériel : Préparation des extraits.....	38
2. Extrait aqueux	38
3. Extraits organiques	38
4. Méthode de dosage des composés phénoliques	39
4.1 Dosage des polyphénols totaux.....	39
4.2 Dosage des flavonoïdes.....	40
5. Etude de l'activité antioxydante	40
5.1 Principe de la méthode.....	40
5.2 Test de piégeage du radical DPPH.....	41
5.3 Mode opératoire	41
5.4 Matériel végétal et préparation des extraits	42
1.3 Test chimique.....	43
5.5 Test au DPPH.....	44
Étude de l'activité antibactérienne et antiproliférative	46
1. Étude de l'activité antibactérienne	46
1.1. Souches bactériennes testées.....	46
1.2 Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion dans le milieu de Mueller-Hinton	46
2. Étude de l'activité antiproliférative	48
2.1 Lignées cellulaires testées.....	48
2.2 Culture des cellules.....	48

2.3	Évaluation de l'activité cytotoxique par le test MTT	49
Partie III : Résultats et discussion		51
Étude ethnobotanique de la Plante <i>Aristolochia longa</i> (<i>Bereztem</i>) utilisée dans le traitement de certaines maladies dans les villes de Rabat, Salé et Témara (Maroc).		52
1.1	Utilisation de la plante <i>Bereztem</i> selon la tranche d'âge	52
1.2	Utilisation de la plante de <i>Bereztem</i> selon le sexe	53
1.3	Utilisation de la plante <i>Bereztem</i> selon le niveau d'étude	53
1.4	Utilisation de la plante <i>Bereztem</i> selon la situation familiale	54
1.5	Utilisation de la plante <i>Bereztem</i> selon le revenu mensuel	55
1.6	Utilisation de la plante <i>Bereztem</i> selon la dose	56
1.7	Utilisation de la plante <i>Bereztem</i> selon l'origine de l'information.....	56
1.8	Les effets de l'utilisation de cette plante médicinale	57
2.	Utilisation thérapeutique de la plante <i>Bereztem</i>	58
2.1	Parties utilisées.....	58
2.2	Mode de préparation	58
2.3	Maladie et médecine traditionnelle	59
2.4	Conclusion	60
Risque d'intoxication par les plantes les plus utilisées en phytothérapie au Maroc		62
1.	Catalogue des plantes les plus utilisées en phytothérapie au Maroc	63
2.	Analyse des données	68
a.	Les intoxications par plantes selon l'âge:	68
c.	Les intoxications par plantes selon les années.....	69
d.	Les intoxications par plantes selon répartition géographique	70
e.	Les intoxications par plantes selon la circonstance d'intoxication.....	70
f.	Figure 37: Répartition des utilisateurs des plantes selon les circonstances d'intoxication. Les intoxications par plantes selon les symptômes	71
g.	Conclusion	72
Dosage des polyphénols et flavonoïdes		73
1.	Dosage des polyphénols et flavonoïdes	73
2.	Activité antioxydante	74
a.	Évaluation de l'activité antioxydante par le test de la DPPH.....	74
b.	Activité antioxydante.....	74
c.	Test chimique	77
d.	Conclusion	78
Étude de l'activité antibactérienne et antiproliférative		79
1.	Activité antibactérienne.....	79

a. Conclusion	81
a. Effet antiproliférative des extraits sur la lignée cellulaire	82
b. Conclusion	87
Discussion générale	88
Bibliographie.....	94
Production Scientifique.....	106

Liste des figures

Figure 1: les plantes médicinales utilisées au Maroc.	6
Figure 2: Le pourcentage du choix entre la médecine traditionnelle et la médecine moderne.	7
Figure 3: Structure de l'unité isoprénique.	10
Figure 4: Structure du noyau phénol (Salta, Mylona, Chiou, & al, 2007)	12
Figure 5: Squelette de base des flavonoïdes (Korkina et Afanas'eva, 1997).....	13
Figure 6: Aspects de la chromatine au niveau de gènes suppresseurs de tumeur, dans les situations normale et tumorale.	19
Figure 7: Photo de la plante <i>Aristolochia longa</i>	24
Figure 8: a) b) les racines d' <i>Aristolochia longa</i>	24
Figure 9: L'acide Aristolochique.	25
Figure 10: Modes de croissance des champignons endophytes dans les tissus des plantes hôtes (Kusari & Spiteller, 2012).	26
Figure 11: Répartition des points d'enquêtes ethnobotaniques réalisées dans les villes de Rabat, Salé et Témara.	30
Figure 12: Protocole de préparation des extraits de plantes.	39
Figure 13: Méthode d'extractions des plantes.....	42
Figure 14: Résultats de Test de DPPH.	45
Figure 15: Diamètre d'inhibition exprimée dans la technique de diffusion en puits.	47
Figure 16: Répartition de pourcentage d'utilisation de la plante <i>Aristolochia longa</i> selon la tranche d'âge.	52
Figure 17: Répartition de pourcentage d'utilisation de plante la <i>Aristolochia longa</i> selon le sexe.	53
Figure 18: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante <i>Aristolochia Longa</i> selon le niveau d'étude.	54
Figure 19: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante <i>Aristolochia Longa</i> selon la situation familiale.	54
Figure 20: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante <i>Aristolochia Longa</i> selon le revenu mensuel.....	55
Figure 21: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante <i>Aristolochia Longa</i> selon la dose.	56
Figure 22: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante <i>Aristolochia longa</i> selon l'origine de l'information.	57

Figure 23: Répartition du pourcentage des personnes questionnées selon les effets d'utilisation de la plante <i>Aristolochia longa</i>	57
Figure 24: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante <i>Aristolochia longa</i> selon la partie utilisée.	58
Figure 25: Pourcentage d'utilisation de la plante <i>Aristolochia longa</i> selon le mode de préparation.	59
Figure 26: Répartition du pourcentage d'utilisation d' <i>Aristolochia longa</i> selon la maladie a traitée.	60
Figure 27: Répartition du pourcentage d'utilisation des plantes toxiques.	63
Figure 28: Photographie de la plante <i>Peganum harmala</i>	64
Figure 29: Photographie de la plante <i>Nigella sativa</i>	66
Figure 30: Photographie de la plante <i>Lawsonia inermis</i>	65
Figure 31: Photographie de la <i>Nerium oleander</i>	66
Figure 32: Photographie de la <i>M'khinza</i>	67
Figure 33: Répartition des utilisateurs des plantes selon la tranche d'âge.	68
Figure 34: Répartition des utilisateurs des plantes selon le sexe.	69
Figure 35: Répartition des utilisateurs des plantes selon les années.	69
Figure 36: La répartition géographique des cas d'intoxication par les plantes.	70
Figure 37: Répartition des utilisateurs des plantes selon les circonstances d'intoxication.	71
Figure 38: Répartition des utilisateurs des plantes selon les symptômes.	72
Figure 39: graphique de l'activité antioxydant.	74
Figure 40: pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des extractions des extraits organiques du champignon.....	75
Figure 41: pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des extractions des extraits organiques d' <i>A. longa</i>	76
Figure 42: Cytotoxicité des extraits d' <i>A. longa</i> contre les cellules RD.	83
Figure 43: Cytotoxicité des extraits d' <i>A. longa</i> contre les cellules VERO.	83
Figure 44: Cytotoxicité des extraits d' <i>A. longa</i> contre les cellules PBMC.....	84
Figure 45: Cytotoxicité des extraits du champignon <i>Fusarium tricinctum</i> contre les cellules de VERO.....	85
Figure 46: Cytotoxicité des extraits du champignon <i>Fusarium tricinctum</i> contre les cellules RD.	85
Figure 47: Cytotoxicité des extraits du champignon cotre les cellules PBMC.....	86

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification botanique d' <i>A. longa</i>	23
Tableau 2: Les études botaniques d' <i>A. longa</i>	33
Tableau 3: les activités anticancéreuses de la plante <i>Aristolochi Longa</i>	35
Tableau 4: les activités antibactériennes de la plante <i>Aristolochi Longa</i>	36
Tableau 5: les Tests au DPPH de différents extraits de la plante.	45
Tableau 6: Souches bactériennes utilisées dans les tests antibactériens et leurs origines.	46
Tableau 7 : Répartition des plantes citées selon leurs indications thérapeutiques.	62
Tableau 8: Contenus en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits d' <i>A. longa</i> et de <i>champignon</i>	73
Tableau 9: Antioxydante capacité (IC50) des extraits d' <i>A. longa</i> et du <i>Champignon</i>	76
Tableau 10: les zones d'inhibition des quatre extraits de la plante <i>A. longa</i> , et des extraits de <i>champignon</i>	80
Tableau 11 : Valeurs de concentration d'inhibition (CI50 en µg/ml) d' <i>A. longa</i> vers RD, VERO et PBMC déterminées par le test MTT.	86

Abréviations

Abs: Absorbance

APMc : Adénosine monophosphate cyclique

ATP : Adénosine triphosphate

CaOx : Oxalate de calcium

COM : Oxalate de calcium monohydrate

COD : Oxalate de calcium dihydraté

CAPM : Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc

DPPH• : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle Diméthylsulfoxyde

EAG : Equivalant acide gallique

EPO: Erythropoïétine

EQ: Equivalent quercétine

FGF: Fibroblast growth factor

GMPc : Guanosine monophosphate cyclique

HE : Huile essentielle

H+ : Hydrogène

IC50 : Concentration inhibitrice médiane

MTT: Dimethylthiazoldiphényl tetrazolium bromide

NV : Nom vernaculaire

OMS : Organisation mondiale de la santé

PM : Plantes médicinales

UATRS : Unités d'Appui Techniques à la Recherche Scientifique

Introduction général

L'utilisation thérapeutique des plantes est une pratique très ancienne. De génération en génération, les êtres humains ont transmis leur savoir et leurs expériences simples en s'efforçant, quand ils le pouvaient, de les consigner par écrit. Ainsi, même actuellement, l'utilisation des plantes médicinales connaît une prévalence très importante dans le monde entier. Le recours à ces plantes est remarqué chez les patients atteints de maladies chroniques telles que le diabète, l'hypertension, les maladies urinaires et le cancer. Selon les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2005), plus de 80% de la population mondiale, surtout dans les pays en voie de développement, ont recours aux traitements traditionnels pour satisfaire leurs besoins en matière de santé et de soins primaires (Schaenberas et Paris, 2014). Même lorsque les soins de santé modernes sont offerts à un coût abordable, nombreux sont ceux qui préfèrent recourir aux pratiques plus traditionnelles (Bellakhdar, 1997); (Guillon, 2001).

Au Maroc, la phytothérapie, avec d'autres médecines alternatives, est considérée comme particulièrement attractive, notre pays possédant une grande richesse en plantes (près de 42.000 espèces dont près de 600 utilisées en médecine traditionnelle) (Elqaj, Ahami, & Belghyti, 2007); (Rafik, 2014), parmi ces espèces, un certain nombre de taxon est utilisé par les patients atteints de cancer pour guérir ou atténuer les effets secondaires des médicaments et des coûts d'hospitalisation. Ce recours aux thérapies alternatives répond surtout à un besoin psychologique et une perte d'espoir dans la médecine conventionnelle et de contrôle sur la vie.

Le recours à la phytothérapie durant ces dernières années a permis d'approfondir l'analyse de son efficacité thérapeutique et surtout de son aspect toxicologique qui est en retrait par rapport à l'avancement de la phytothérapie (Rafik, 2014).

Le Maroc dispose, dans le domaine des plantes médicinales et aromatiques, d'un génie humain et d'un savoir-faire très ancien, reposant sur des principes de mode de vie, rural ou pastoral, exigeant une grande familiarité avec les ressources végétales du milieu environnant. Par ailleurs, les remèdes à base de plantes ont un immense avantage par rapport au traitement chimique. Le Maroc accumule des données d'expériences sur l'usage des remèdes d'origine naturelle (Les plantes aromatiques et médicinales, 2012). Cependant, ces remèdes ne sont pas nécessairement sans danger du simple fait qu'ils soient naturels (Salki & soulayman, 2008).

Le Maroc enregistre chaque année, à travers le Centre Antipoison du Maroc-établissement de la santé publique-, une augmentation du taux d'incidence des intoxications et des effets indésirables liés à l'utilisation des plantes d'environ 3,1%. Selon le rapport annuel de l'année 2014 (Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc, 2014), le CAPM a reçu 382 cas d'intoxication,

liés à l'utilisation des plantes, dont 18,88 cas sont des effets indésirables (Troubles digestifs, troubles de système nerveux central et périphérique, troubles rénaux et hépatiques). Parmi ces plantes médicinales, nous avons noté plusieurs cas liés à leur usage irrationnel dans le traitement de certaines maladies, notamment le cancer tel que l'*Aristolochia longa*, et dans toutes les régions du Maroc.

L'objectif de cette recherche est de mettre en évidence les intoxications causées par les plantes les plus utilisées par la population marocaine, chez les patients atteints du cancer, et de réaliser une enquête socio-économique et ethnobotanique dans les villes de Rabat, Salé et Témara, auprès des herboristes, afin de préciser la nature et la proportion des prescriptions de la plante Bereztem qui est supposée être toxique, et à mettre en évidence ses propriétés pharmacologiques in vitro. Ainsi, nous avons travaillé sur les axes suivants :

- ❖ Elaboration d'une revue bibliographique sur la plante *Aristolochia longa*.
- ❖ Etude ethnopharmacologique des plantes les plus utilisées en phytothérapie dans la région Rabat, Salé et Témara, puis nous avons procédé à l'extraction, et à la caractérisation phytochimique des extraits organiques de la plante *Aristolochialonga*.
- ❖ Etude des intoxications causées par les plantes (*Peganum harmala* ; *Nigella sativa* ; *Lawsoniainermis*...) les plus utilisées par la population marocaine chez les patients atteints du cancer.
- ❖ Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Aristolochia longa* et du champignon *Fusarium tricinctum*.
- ❖ Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de la plante et du champignon, contre différentes souches bactériennes, nous avons travaillé sur trois espèces de *Rhodococcus* sp, *E. coli* et *S. aureus*.
- ❖ Etude de la cytotoxicité des extraits, qui est évaluée contre des lignées cellulaires cancéreuses (RD, PBMC et VERO).

Partie I : Étude bibliographique

Chapitre I : utilisation des plantes médicinales dans la médecine traditionnelle

1. Les plantes médicinales

1.1. Historique de la relation de l'homme avec les plantes médicinales

Le parcours historique réalisé ici ne se veut pas exhaustif. Il relate, d'une part, les périodes les plus importantes et les mieux connues dans l'évolution de l'utilisation des plantes médicinales et d'autre part, le rapport de l'homme à la médecine qui a conduit à la phytothérapie telle qu'elle est pratiquée aujourd'hui au Maroc. L'Homme perçoit l'effet de ses remèdes et cherche de nouvelles sources d'inspiration dans la nature pour se soigner. L'histoire de la pharmacie et celle de la phytothérapie (en tant qu'art de l'utilisation des plantes médicinales) sont pendant très longtemps communes : l'une prend sa racine de l'autre (Scherrer, Motti, & Weckerle, 2005).

Si les traces ostéologiques, laissées par les faits pathologiques, enrichissent les données de la paléo-pathologie, l'origine ancienne de la thérapeutique médicamenteuse est plus difficile à démontrer de façon factuelle. L'archéologie de l'alimentation et l'archéologie elle-même apportent de façon indirecte des éléments qui doivent être interprétés, et qui permettent d'enrichir et de nuancer les théories qui ont cours sur la naissance de l'art de soigner (Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc).

1.2 Les premières traces de l'utilisation de plantes médicinales au Maroc

Par ses contrastes géographiques, le Maroc offre une gamme variée de bioclimats permettant l'installation d'une flore riche (plus de 4200 espèces) et une diversité de ressources phylogénétiques en plantes médicinales (600 espèces). A côté de ce contexte naturel prometteur, le Maroc dispose d'un savoir-faire ancestral : la médication par les plantes, leur utilisation pour l'aromatisation et la conservation des aliments, ainsi que pour l'extraction des principes aromatiques destinés à la parfumerie familiale ou au marché (Bourkhiss, Lakhlifi, & Ouhssine, 2016).

Le Maroc est un fournisseur traditionnel du marché mondial en PAM. Cette activité met en exploitation aussi bien des plantes spontanées que des plantes séchées pour les besoins d'herboristerie et les aromates alimentaires. Plus d'une vingtaine d'espèces sont utilisées pour la production d'huiles essentielles ou d'autres extraits aromatiques, destinés essentiellement à

l'industrie de parfumerie et cosmétique, ainsi que pour la préparation des produits d'hygiène et la formulation des arômes.

La production des PAM au Maroc se révèle ainsi riche et diversifiée, ce qui constitue un important atout pour l'établissement et le développement du secteur. Plusieurs produits y sont connus comme étant des produits typiquement marocains. Cela signifie que la profession d'exploitation des PAM au Maroc, malgré ses faiblesses, a réussi à introduire sur le marché international plusieurs produits nouveaux (Salhi, Fadli, Zidane, & Douira, 2010). Après le premier tiers du siècle dernier, vint l'âge de la chimie. La chimiothérapie éclipsa partiellement la phytothérapie. Les plantes médicinales ne disparaissant pas de l'univers pharmaceutique mais deviennent de simples matières premières. Toutefois depuis les années 70 du siècle dernier, entre autre à cause des effets indésirables des médicaments de synthèse, les gens vont se tourner de nouveau vers les plantes médicinales. Leur popularité grandissante a amené les scientifiques à entreprendre de nouvelles recherches. L'OMS a ainsi créé un organisme visant à recenser les usages traditionnels des plantes médicinales, à les valider sur le plan scientifique et à mieux comprendre leurs mécanismes d'action (CAPM) (Tabuti, Lye, & Dhillion, 2003).

1.3 L'utilisation des plantes médicinales au Maroc

Les plantes médicinales sont des plantes contenant des substances utiles dans un processus de guérison ou de prévention. Ces plantes médicinales sont utilisées au Maroc pour prévenir ou traiter les maladies, nous employons les termes phytothérapie dans la préparation de l'herboristerie et du remède phytothérapeutique (Rafik, 2014). Par ses contrastes géographiques, le Maroc offre une gamme variée de bioclimats permettant l'installation d'une flore riche (plus de 4200 espèces) et une diversité de ressources phylogénétiques en PAM (600 espèces). Plus d'une vingtaine d'espèces sont utilisés pour la production d'huiles essentielles ou d'autres extraits aromatiques destinées essentiellement à l'industrie de parfumerie et cosmétique ainsi que pour la préparation des produits d'hygiènes et la formulation des arômes destinés à la parfumerie familiale ou au marché (Scherrer, Motti, & Weckerle, 2005). Nous retrouvons leurs principes actifs dans de nombreux médicaments, mais il est possible aussi de profiter de leurs bienfaits en les utilisant frais ou séchées, en tisanes, en décoctions ou incorporées à un plat (Rafik, 2014).



Figure 1: les plantes médicinales utilisées au Maroc.

2. Médecine traditionnelle et complémentaire

Le terme (Médecines Complémentaire et Alternative) a été adapté du terme anglosaxon CAM (Complementary and Alternative Medicine). Différents termes sont utilisés pour parler de ces MAC : (médecines douces), (médecines alternatives), (médecines complémentaires), ils sont tous regroupés au sein d'une même entité : (les médecines non conventionnelles) (Figure 2).

1.1 Médecine traditionnelle

La médecine traditionnelle est très ancienne. C'est la somme de toutes les connaissances, compétences et pratiques reposants sur les théories, les croyances et les propres expériences de différentes cultures, qu'elles soient explicables ou non, et qui sont utilisées dans la préservation de la santé, ainsi que dans la prévention, le diagnostic, l'amélioration ou le traitement de maladies physiques ou mentales (Libman, Bouamanivong, Southavong, Sydara, & Soejarto, 2005).

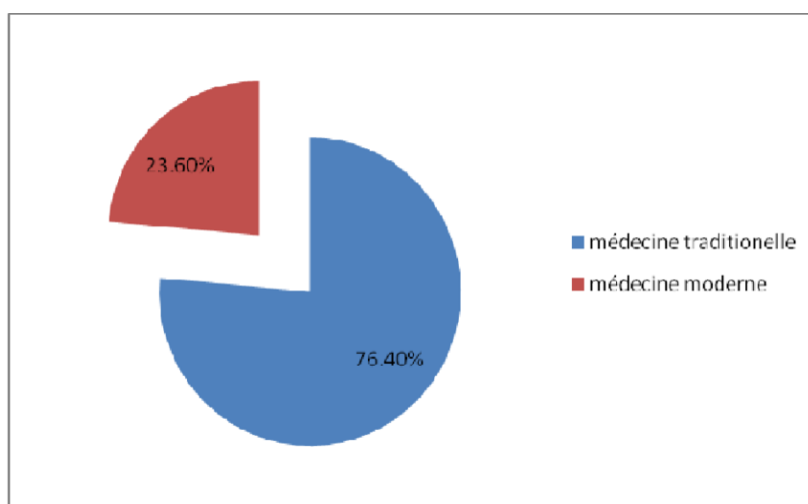


Figure 2: Le pourcentage du choix entre la médecine traditionnelle et la médecine moderne.

Il existe un large éventail de médecines complémentaires. Elles s'utilisent quelque fois en complément du traitement conventionnel. Ce besoin exprimé par les malades a généralement pour cause : la longueur du traitement médicamenteux, les effets secondaires engendrés par ces traitements, et le manque de moyens financiers et l'aide psychologique.

Utilisation des plantes médicinales selon le profil des enquêtés et selon le genre : Dans le plateau central marocain, les usagers qui ont recours à la médecine traditionnelle sont de l'ordre de 563 personnes.

1.2 Médecine complémentaire (MC)

Les termes (médecine complémentaires) ou (médecine alternative) font référence à un vaste ensemble de pratiques de santé qui ne font pas partie de la tradition ni de la médecine conventionnelle du pays et ne sont pas pleinement intégrées à son système de santé prédominant. Dans certains pays, ils sont utilisés de manière interchangeable avec le terme (médecine traditionnelle).

Chapitre II : Phytothérapie.

1. Généralités

La phytothérapie est une approche multidisciplinaire interconnectée par des études de l'ethnobotanique, de l'ethnopharmacologie, de l'ethnomédecine et de l'ethnopharmacie. L'ethnobotanique est l'étude des relations entre le taxa des plantes et leur utilisation thérapeutiques traditionnelles. Cette approche permet de collecter l'ensemble des informations sur la production des plantes, la préparation des remèdes, les allégations d'utilisation, le dosage et l'évaluation des drogues utilisés (Barbosa, 2008). La phytothérapie, étymologiquement le traitement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales. Elle est probablement la Médecine la plus ancienne (Hmamouchi M. , 1999). Depuis la nuit des temps, la première préoccupation de l'Homme fut de satisfaire ses besoins alimentaires. Puis il dû lutter contre les maladies ou le mal être qui touchaient son corps et son esprit. Face à la maladie, il a cherché dans son environnement, les plantes, les animaux, les minéraux qui pouvaient le soulager (Bellakhdar, 1997). Par l'intuition, l'observation ou l'expérimentation sur eux-mêmes ou sur des animaux, les Hommes sélectionnèrent les végétaux utiles, ceux qui nourrissent, ceux qui soignent et ceux qui empoisonnent ou tuent et qui peuvent être utiles à la chasse ou à la guerre. Ainsi ils purent observer les animaux qui utilisent des plantes précises quand ils présentent certains symptômes.

Les Hommes qui découvrirent les premières plantes efficaces eurent la reconnaissance immédiate de leur entourage ; ce furent des guérisseurs. En même temps, ils arrivèrent à améliorer l'efficacité de ces plantes par des préparations qui en diminuent leurs aspects défavorables comme leur nocivité ou leur goût et accroissent leur potentiel curatif.

Dans chaque région du monde s'est échafaudé un système cohérent de croyances et de conceptions de la médecine -maladies du corps et de l'esprit- où sont décrits les causes de ces maux et les principes thérapeutiques pour rétablir la santé. La connaissance des plantes se transmet de génération en génération par un apprentissage ou une initiation dans toutes les sociétés de tradition orale (dans certaines populations de l'Afrique, de l'Amérique et du Pacifique). Dans d'autres régions du monde, l'écriture véhicule les savoirs thérapeutiques et c'est ainsi que se développent les médecines savantes grecque, indienne, chinoise et arabo-persane (Iserin, 2001).

Les parties des plantes utilisées en phytothérapie produisent un grand nombre de substances actives (Barbosa, 2008).

La diversité de ces substances et le fait qu'elles ne se rencontrent pas chez toutes les espèces végétales montre qu'elles n'entrent pas dans le métabolisme général. Ainsi elles sont connues sous le nom de métabolites secondaires. Ces derniers comportent quatre types de composés: Les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance) Les hétérosides, Les terpènes, Les alcaloïdes (Bruneton, 1999).

Parmi les milliers molécules produites par ce métabolisme, l'Homme sélectionne celles qui lui permettent de se défendre contre les agressions d'autres organismes vivants pathogènes (champignons, bactéries, virus...), d'améliorer ses troubles métaboliques, et de se soigner de manière générale (Zekkour, 2008). Dans notre étude, nous avons montré les liens de causalité positive existant entre l'utilisation traditionnelle des plantes médicinales et leurs propriétés biologiques in vitro en fonction des principes actifs identifiés.

2. Mode de préparation des plantes médicinales

L'extraction est l'ensemble des techniques utilisées depuis longtemps et qui permettent d'extraire les substances végétales, appelées principes actifs pour les utiliser dans le domaine de la phytothérapie (Rafik, 2014):

Macération : Elle se fait par broyage de la partie de la plante concernée puis de la poudre trempée dans l'eau à température ambiante. Les poudres sont placées dans des récipients opaques et étanches à l'abri de la lumière. Ce procédé permet ainsi une extraction des principes actifs en utilisant l'eau comme solvant (Handa S. , Khanuja, Longo, & Rakesh, 2008).

Tisane : Elle est obtenue généralement à partir du traitement de produits végétaux par l'eau. L'eau est le véhicule idéal pour l'extraction de la plupart des composants chimiques que renferment les plantes (Handa S. , Khanuja, Longo, & Rakesh, 2008).

Infusion : Elle se prépare par la mise des parties de la plante à utiliser dans un récipient très résistant à la chaleur. Le récipient est fermé et laissé infuser un certain temps permettre à l'extraction de se produire. Le mélange est ainsi filtré et la consommation de solution filtrée se fait immédiatement (Handa S. , Khanuja, Longo, & Rakesh, 2008).

Décoction : Elle se prépare, généralement, avec les parties les plus dures de la plante (écorce, racine, rhizome, graine, etc.) pour libérer leurs principes actifs, nécessitent une longue période d'ébullition. La préparation se fait par émergence des produits dans un récipient contenant la quantité d'eau nécessaire et le mélange est laissé reposer hors du feu pendant quelques minutes, avant de le filtrer et de le consommer (Handa S. , Khanuja, Longo, & Rakesh, 2008).

Ces différentes préparations ont toutes les mêmes finalités :

- a) Rendre plus accessible et plus facile l'administration de la plante,
- b) Augmenter la concentration de certains principes actifs de la plante,
- c) Favoriser la conservation de la ou des plantes, ou des préparations faites avec ces plantes,

Par exemple, une décoction peut être conservée plus longtemps qu'une infusion car, la période d'ébullition étant plus longue, elle permet une stérilisation du liquide. Il faut signaler toutefois que chaque plante médicinale a un mode d'emploi particulier et que l'on doit impérativement savoir qu'il existe un mode de préparation idéal. Il suffit de le connaître et de savoir tirer profit des propriétés médicinales d'une plante ou de certaines de ses parties.

3. Différents groupes des principes actifs des extraits des plantes médicinales

3.1. Terpènes

3.1.1. Définition

Les terpènes sont des composants organiques aromatiques dérivés de l'isoprène (Figure 3) qui se trouvent dans tout type de végétation et sont importants dans de nombreuses interactions biotiques, en exerçant des fonctions primaires comme la protection face à divers facteurs comme les températures élevées, les insectes ou les prédateurs herbivores (Klauke, et al., 2014). On les trouve et font partie de la chlorophylle et de quelques pigments caroténoïdes.

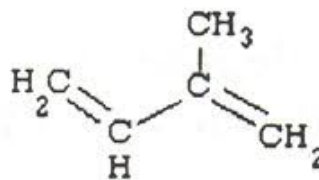


Figure 3: Structure de l'unité isoprénique.

3.1.2. Classification des terpènes

Les produits les plus connus sont les monoterpènes qui répondent à la formule brute de $(C_{10}H_{16})$, les sesquiterpènes $(C_{15}H_{24})$ et les diterpènes $(C_{20}H_{32})$. Les monoterpènes et les sesquiterpènes se retrouvent presque toujours dans les huiles essentielles sous forme acyclique, monocyclique ou bicyclique avec l'existence de nombreuses molécules fonctionnalisées (alcools, aldéhydes, cétones, esters, éthers, peroxydes).

Monoterpènes : Ces composés contiennent deux unités de l'isoprène. Ils sont largement distribués dans la nature, en particulier dans les huiles essentielles. Ils sont importants dans l'industrie des parfums (Amorati, Concetto Foti, & Valgimigli, 2013).

Sesquiterpènes : Ils contiennent trois unités de l'isoprène. Ils sont trouvés dans beaucoup de systèmes vivants mais en particulier dans les plantes supérieures (Bottin, 2006).

Diterpènes : Contiennent 20 atomes du carbone dans leurs squelettes de base. Ils sont composés de quatre unités de l'isoprène. Ils existent dans presque tout le règne végétal et appartiennent à plus que 20 types structurels (Amorati, Foti, & Valgimigli, Antioxidant Activity of Essential Oils, 2013).

Composés aromatiques : Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les huiles essentielles d'Apiacées (anis, fenouil, cannelle, basilic).

3.2. Polyphénols

Depuis une quinzaine d'années, les chercheurs et les industriels de l'agro-alimentaire s'intéressent de plus en plus à une catégorie d'antioxydants des polyphénols. La reconnaissance des propriétés antioxydantes de ces composés, leur abondance dans l'alimentation et leur rôle probable dans la prévention des maladies associées à un stress oxydant sont les principales raisons de cet engouement. Les polyphénols présentant ainsi des propriétés antioxydantes bien établies et en lien avec l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (stress oxydant). Ainsi, ils pourraient constituer une alternative à l'utilisation des additifs alimentaires synthétiques, qui ont montré des effets nuisibles (effet carcinogène) (Japon-Lujan, Janeiro, & Luque de Castro, 2008).

On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement (Keys A., Keys M, 1975), contribuant

ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés (Weyerstahl, Marschall, Splittgerber, & Wolf, 1996) L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Figure 4), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside.

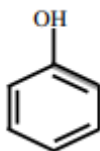


Figure 4: Structure du noyau phénol (Salta, Mylona, Chiou, & al, 2007)

1.3 Acides phénoliques

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes sous une forme benzoïque et une autre cinnamique (Bruneton, 1996).

1.4 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (Figure 5) (Sousa, Ferreira, Barros, Bento, & Pereira, 2008). Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques.

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides, flavanols, flavonols et anthocyanidines (Heinrich, Chan, Wanke, Neinhuis, & Simmonds, 2009). Leur biosynthèse est réalisée à partir d'un précurseur commun, 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Cette chalcone jaune est métabolisée, sous l'action de l'enzyme chalcone isomérase, en flavonone (naringénine). Ceci est suivi de flavone synthase ou (2S)-flavanone-3-hydroxylase pour former la flavone (apigénine) ou le dihydroflavonol. Les deux enzymes se concentrent de différentes façons; La première introduit le double liaison entre les carbones C2 et C3, tandis que la seconde catalyse l'hydroxylation du carbone C3. Le dihydroflavonol, en présence de flavonol synthase ou de dihydroflavonol-4-réductase, est métabolisé en flavonol (kaempferol) ou flavan-3,4-diol (leucoanthocyanidol). Ce dernier semble être le précurseur des

flavan-3-ol et des anthocyanidols. Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature du substituant (groupes hydroxyle, groupes méthoxyle et similaires) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne C3 intermédiaire (Bruneton, 1999).

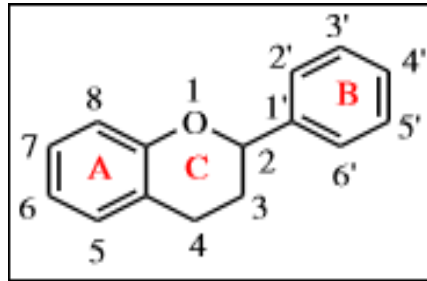


Figure 5: Squelette de base des flavonoïdes (Korkina et Afanas'eva, 1997).

Chapitre III : Propriétés biologiques des plantes médicinales

1. Activité antibactérienne des plantes médicinales du Maroc

En général, les antibiotiques, sont des médicaments fabriqués à partir de culture de micro-organisme ou sont entièrement synthétisés, ils ont la capacité de tuer et d'empêcher la prolifération des bactéries. Cependant, les micro-organismes ont montré la capacité de résister à l'action des antibiotiques via le développement de plusieurs mécanismes (Bouyahya, et al., 2017). L'activité antibactérienne des extraits organiques des plantes médicinales marocaines sont très étudiées en utilisant des méthodes qualitatives telles que la méthode de diffusion sur disque (Talbaoui, et al., 2012) (Chatoui, Talbaoui, Aneb, Bakri, & Harhar, 2016) et la méthode de diffusion en puits (Bouhdid, Zhiri, & Abrini, 2019). Les résultats sont exprimés en termes des zones d'inhibition qui permettent d'accéder aux valeurs d'inhibition quantitatives. Cependant, l'application potentielle de ces produits nécessite des résultats qualitatifs pour déterminer des concentrations efficaces telles que la concentration inhibitrice minimale (CMI) et la concentration bactéricide minimale (CMB) pour promouvoir leurs applications, en particulier dans l'utilisation thérapeutique.

1.1 Action des agents antimicrobiens

L'organisme de chaque hôte contient un système de défense très puissant qui élimine toutes les structures néfastes pour l'organisme surtout le non soi pathogène tel que les bactéries, ce système de défense implique plusieurs mécanismes spécifiques et non spécifiques (Biologie Analyse et contrôles microbiologie) (Haddouchi & BENMANSOUR, 2008) .

- **Stérilisation**

Procédé par lequel on détruit ou on élimine d'un objet ou d'un habitat toutes les cellules vivantes, les spores viables, les virus et les viroïdes. Un objet stérile est totalement exempt de microorganismes, de spores ou d'autres agents infectieux viables. Un agent chimique permettant la stérilisation est un agent stérilisant (Biologie Analyse et contrôles microbiologie (Haddouchi & BENMANSOUR, 2008).

- **Désinfection**

Elle peut concerner le matériel, le sol, les mains... C'est une opération permettant l'élimination momentanée de microorganismes et l'inactivation des virus. Les désinfectants sont des agents généralement chimiques, n'assurant pas forcément la stérilisation complète d'un objet.

- **Antiseptie**

Opération permettant l'inhibition ou la destruction de micro-organismes pathogènes au niveau de tissus vivants. En principe, on doit réserver le terme "désinfection" aux milieux inertes et "antiseptie" aux tissus vivants. Les antiseptiques sont moins toxiques que les désinfectants, mais leur utilisation reste externe.

- **Décontamination**

Processus réduisant la population microbienne à des niveaux considérés sans danger par les normes de la santé publique.

- **Asepsie**

Ensemble des mesures empêchant tout apport exogène de microorganismes. La stérilisation, la désinfection et la décontamination sont des moyens de réaliser l'asepsie.

- **Antibiotiques**

Ce sont des agents chimio thérapeutiques, agissant de manière spécifique au niveau d'une voie métabolique microbienne, et inhibant ainsi la croissance microbienne. Les antibiotiques « naturels » sont fabriqués par des micro-organismes (bactéries et moisissures). Les antibiotiques « semi-synthétiques » sont obtenus par modification chimique des antibiotiques naturels. Les antibiotiques « synthétiques » tels que les sulfamides sont obtenus par synthèse chimique. Les antibiotiques agissent à des concentrations de l'ordre du μ g/ml in vitro (Billerbeck v.g. 2007).

- **Temps de réduction décimal (D)**

C'est le temps nécessaire pour réduire d'une puissance de 10 le nombre de microorganismes. La contamination initiale est divisée par 10 chaque fois que l'opération de destruction en cours est prolongée d'un temps D.

- **Type d'action**

Une substance est dite Bactériostatique (ou fongistatique) si elle possède la propriété d'inhiber momentanément la multiplication des bactéries (ou des champignons). Une substance est dite Bactéricide (ou fongicide) si elle détruit totalement les bactéries (ou les champignons).

- **Spectre d'activité**

Il s'agit de la liste des espèces vis-à-vis desquels les un agent exerce son pouvoir bactéricide ou bactériostatique. Si les désinfectants et les antiseptiques ont un spectre très large, les antibiotiques ont un spectre beaucoup plus étroit. Par exemple la pénicilline G n'agit que sur les bactéries à Gram positif.

- **Efficacité**

Un agent antimicrobien est plus ou moins efficace selon : l'intensité pour les agents physiques la concentration, la stabilité chimique, la solubilité pour les agents chimiques ; le temps de contact; la température...

- **Classification**

Nous pouvons distinguer les agents de destruction, les inhibiteurs, et les procédés qui tendent à éliminer les microorganismes du milieu où ils se trouvent (exemples : filtration, centrifugation). La classification habituelle sépare les agents physiques, les agents chimiques et les agents chimio thérapeutiques.

1.2 La résistance bactérienne

Une Bactérie Multi-résistante aux antibiotiques est une bactérie qui n'est plus sensible qu'à un très petit nombre d'antibiotiques. Toutes les bactéries peuvent développer une multi-résistance, qu'elles soient impliquées dans les infections communautaires ou dans les infections nosocomiales.

Nous classons les antibiotiques par famille, en fonction de leur structure chimique et de leur mode d'action. Le spectre d'action d'un antibiotique est différent d'une famille et d'un antibiotique à l'autre et peut également évoluer avec le temps en fonction de l'acquisition de résistances. Il existe deux types de résistance des bactéries pour les antibiotiques : **les résistances naturelles et les résistances acquises.**

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques, leur patrimoine génétique les rend insensibles à certaines familles d'antibiotiques et elles transmettent ces résistances à leur descendance. Nous parlons de la **résistance "naturelle"**.

Par ailleurs, quand les bactéries sont soumises à des traitements antibiotiques, elles finissent par développer des résistances contre des antibiotiques auxquelles elles étaient auparavant sensibles : Nous parlons de la **résistance "acquise"**. Ces résistances sont dues, soit à la mutation du patrimoine génétique de la bactérie, soit à l'acquisition par la bactérie, d'un "plasmide", matériel

porteur de gènes de résistance provenant d'une autre bactérie. Ce dernier mode de résistance acquise est le plus fréquent, il représente plus de 80% des résistances acquises ([Smithson, et al., 2012](#))

2. Les différents types d'antibiotiques

- **Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des composés chimiques naturels qui contiennent des atomes d'azote basiques. Leur nom est dérivé du terme "alcalin". Les alcaloïdes sont produits par une grande variété d'organismes, notamment les bactéries, les champignons, les végétaux et les animaux.

Un grand nombre d'alcaloïdes, qui présentent souvent des effets pharmacologiques, sont toxiques pour les autres organismes. Les anesthésiques locaux et la stimulante cocaïne, la stimulante caféine, la nicotine, l'analgésique morphine ou l'antipaludique quinine en sont des exemples. Certains alcaloïdes sont amers ([callebant, 2005](#)).

- **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des substances présentes dans les plantes. Ils sont à l'origine des teintes brunes, rouges et bleues des fleurs et des fruits. Certaines plantes sont réputées pour leur richesse en flavonoïdes : par exemple, le thé, le raisin, les oignons, les pommes, le cacao, la grenade, le cassis et les myrtilles ou encore le café.

Certains flavonoïdes protègent les végétaux des bactéries, des virus et des moisissures. Ils sont également connus sous de nombreux autres noms, tels que bio-flavonoïdes, poly-phénols, proanthocyanidines, catéchines ou flavonols. Les iso-flavones du soja en font partie ([Eurika santé, 2016](#)).

- **Les terpenoïdes**

Les terpenoïdes et terpènes sont des composés aromatiques présents dans des milliers d'espèces de plantes, et sont à l'origine des différentes saveurs et parfums du cannabis.

Les terpènes sont une vaste classe de composés organiques d'origine naturelle nous les connaissons également sous le nom d'isoprènes, car leur structure repose sur la répétition d'unités 20 d'isoprène (C₅H₈). Les terpènes sont les principaux composants de la résine végétale et des huiles essentielles extraites de ces plantes.

Les terpènes sont des hydrocarbures basiques, tandis que les terpenoïdes contiennent des groupes fonctionnels supplémentaires, qui pourraient être composés d'une série d'éléments chimiques. Les terpenoïdes, également appelés isoprénos, constituent le plus gros groupe de composés organiques découvert à ce jour, avec au moins 20 000 molécules distinctes ([Seshata, 2014](#)). Les stéroïdes anabolisants ou anabolisants stéroïdiens, ou tout simplement stéroïdes, sont un terme

générique reprenant différents stéroïdes hormonaux représentés par les hormones corticosurrénales, les hormones sexuelles féminines ainsi que les hormones sexuelles masculines.

Les hormones stéroïdiennes, composantes androgéniques, représentent de nombreuses similitudes avec la testostérone, qui agit par rétrocontrôle sur l'hypophyse et l'hypothalamus, ainsi que sur un grand nombre de fonctions vitales de l'organisme, expliquant ces effets secondaires. La plupart des sportifs amateurs de stéroïdes cherche une de leurs vertus dans le cadre de brûleurs de graisse, agissant rapidement pour développer la force et la masse musculaire.

La méconnaissance du danger de l'utilisation des stéroïdes anabolisants permet à celui qui les utilise de se poser la seule question : est-ce que je suis capable de le faire ? Le principal reproche que nous puissions faire à ces produits est qu'ils sont d'un usage dangereux pour la santé, et d'un coût de revient prohibitif. Il est bien entendu que leur utilisation est interdite par le code mondial antidopage.

L'utilisation de stéroïdes anabolisants rentre dans le cadre de l'utilisation de « potion magique », bien connue par Astérix, qui permet de transformer l'être humain en surhomme (Patrick, 2015).

- **Les Tanins**

Les tanins sont des métabolites secondaires de certaines plantes supérieures. Ils se retrouvent dans toutes les parties du végétal (racine, écorce, feuilles etc.). Molécules de nature phénolique, elles protègent les plantes de l'infestation par certains parasites.

Depuis l'Antiquité, les Hommes utilisent les tanins, principalement pour tanner les peaux. Ils se retrouvent également dans le vin, du fait de leur présence dans le chêne composant les tonneaux et seraient responsables des propriétés antioxydants du vin rouge. Ils ont également été utilisés pour la coloration de certaines étoffes (Guillon, 2001).

3. Activité anticancéreuse de quelque plantes médicinales

Le cancer est une maladie caractérisé par une prolifération cellulaire anormale au sein d'un tissu normal de l'organisme. Aujourd'hui, plusieurs études ont été effectuées sur les plantes pour extraire des traitements anticancéreux. En effet, les plantes médicinales et leurs extraits actifs ont montré des effets anti-tumoraux remarquables (Bouyahya, Abrini, Bakri, & Dakka, 2016). Par exemple, une étude a montré que la capacité des cellules cancéreuses pancréatiques à métaboliser le glucose est limitée ou inhibée par le jus de melon donc réduit la source essentielle d'énergie des cellules cancéreuses (Dument, 2015). Certaines plantes marocaines ont montré des

propriétés cytotoxiques importantes *in vitro* sur des lignées cellulaires tumorales (Merghoub, El Btaouri, & Benbacer, 2016) (Bouyahya, Abrini, Bakri, & Dakka, 2016). Les mécanismes d'action antiprolifératifs des métabolites secondaires des plantes médicinales sont dus à la capacité des principes actifs à induire l'apoptose, l'autophagie et l'arrêt du cycle cellulaire des cellules tumorales. Par ailleurs, certains composés, en particulier des terpènes, ont la capacité de perturber le potentiel membranaire des mitochondriales dans les cellules cancéreuses (Bouyahya, Abrini, Bakri, & Dakka, 2016).

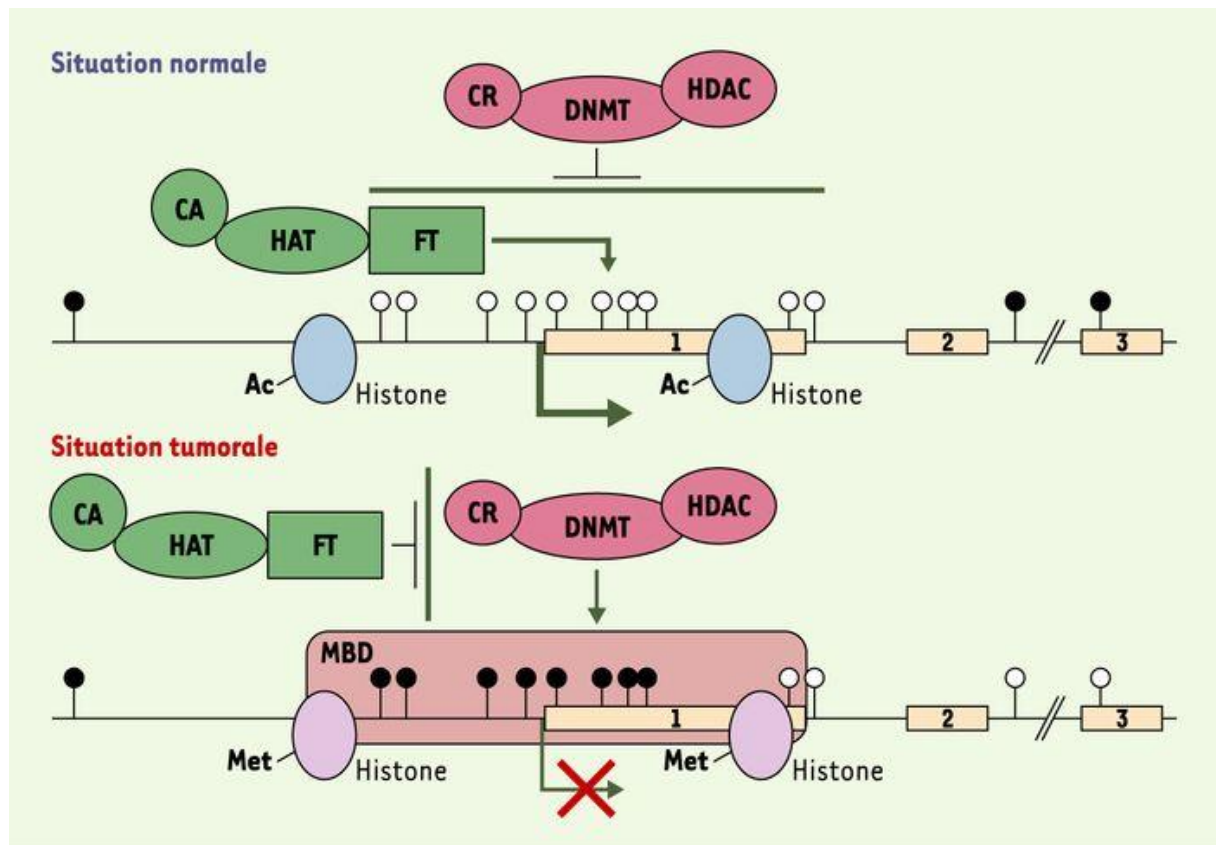


Figure 6: Aspects de la chromatine au niveau de gènes suppresseurs de tumeur, dans les situations normale et tumorale.

La plupart des gènes présentent, au niveau de leur promoteur et/ou de leur premier exon, un nombre élevé de dinucléotides CpG regroupés dans des zones nommées îlots CpG. Dans une situation normale, la plupart des CpG en dehors des îlots sont méthylés (cercles noirs), tandis que les CpG des îlots ne sont pas méthylés (cercles blancs). Dans cette région promotrice, l'acétylation des histones permet de maintenir la chromatine dans un état « relâché », accessible aux complexes de transcription constitués notamment de facteur de transcription (FT), de protéines acétylant les histones (HAT) et de co-activateurs transcriptionnels (CA). Dans une situation tumorale, les profils de méthylation sont inversés, avec une hypométhylation des CpG répartis le long du génome et dans les régions codantes, et une hyper-méthylation des îlots CpG

au niveau des promoteurs. Ces CpG méthylés sont reconnus par des protéines à domaine MBD (*methyl-CpG binding domain*), responsables du recrutement, notamment, des enzymes de modifications post-traductionnelles des histones (désacétylation [HDAC] et méthylation), des protéines responsables de la méthylation de l'ADN (DNMT) et des corépresseurs transcriptionnels (CR) (Kriaucionis & Brid, 2003).

Dans notre laboratoire, plusieurs chercheurs ont étudié les activités antitumorales des plantes médicinales. En effet, Merghoub et al. ont examiné les effets cytotoxiques des extraits méthanoliques de *Retama monosperma*, *Inula viscosa*, *Berberis hispanica*, *Ormenis eriolepis*, *Ormenis mixta*, *Rhamnus lycioides* et *Urginea maritima* contre les lignées cellulaires HeLa et SiHa. L'extrait méthanique d'*I. viscosa* a montré une capacité cytotoxique importante contre la lignée cellulaire SiHa (IC₅₀=54 µg/mL) et HeLa (IC₅₀=60µg/mL), alors que l'extrait méthanolique d'*eriolepis* a inhibé la prolifération de SiHa et HeLa avec des concentrations de IC₅₀=94 et IC₅₀=96 µg/mL respectivement (Merghoub, El Btaouri, & Benbacer, 2016) ont étudié les actions cytotoxiques et pro-apoptotiques des fractions de dichlorométhane et des extraits de n-hexane de *I. viscosa* contre les lignées cellulaires SiHa et HeLa. Les auteurs ont démontré que les extraits de dichlorométhane et d'hexane de *I. viscosa* ont inhibé la croissance des cellules HeLa et SiHa de manière dose-dépendante. L'extrait hexanique et de dichlorométhane d'*I. viscosa* sont liés à un effet anti-téломérase et un raccourcissement induit du télomère. Un autre mécanisme est lié à la capacité de ces extraits {induire l'apoptose via des effets sur l'annexin-V et la caspase-3 (Merghoub, El Btaouri, & Benbacer, 2016). D'autre part, Belayachi et al. (2013) ont criblé l'effet cytotoxique des extraits d'hexane, du méthanol, d'acétate d'éthyle et de dichlorométhane d'*I. viscosa*, *R. monosperma*, *O. eriolepis* et *Marrubium vulgare* sur plusieurs lignées cancéreuses. Tous les extraits ont inhibé la croissance de la majorité des lignées tumorales testées. Cependant, l'extrait d'hexane a montré des effets cytotoxiques à de faibles concentrations (IC₅₀=5.9±3.57 µg/mL) contre le glioblastome épithélial (LN229).

4. Mécanismes d'action anticancéreux des plantes médicinales

Les traitements actuels comprennent la chimiothérapie, la radiothérapie et des médicaments à base de chimie. Les traitements telle que la chimiothérapie peuvent mettre les patients sous une telle pression que leur santé est particulièrement détériorée. C'est pour cela que l'utilisation des traitements contre le cancer ou thérapies complémentaires attire l'attention. Depuis de nombreuses années, les plantes médicinales ont été utilisées et sont toujours utilisées, dans les pays en voie de développement, comme base fondamentale d'un traitement médical.

Bien que peu d'études aient abordé le mécanisme par lequel un extrait entier ou l'un de ses constituants agit sur les cellules tumorales, et même si la plupart des études rapportent une toxicité spécifique sur les cellules cancéreuses en l'absence d'une toxicité sur les cellules témoins, certains composés tels que le saffrole ou l'isoeugénol sont bien connus comme des molécules dangereuses, et l'évaluation de la toxicité des constituants des extraits et des HE in vitro et, en particulier in vivo est d'une importance cruciale (Bakkali, Averbek, Idaomar, & Averbek, 2008). Les mécanismes mis en jeu sont très divers, allant des niveaux structuraux à des niveaux moléculaires (régulation de transcription génique), en passant par des 25 niveaux métaboliques (production des espèces réactives d'oxygène chez les cellules cancéreuses).

5. Activité antioxydante

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en dismutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion (Favier, 2003).

En effet, le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la multiplication mitochondriale de radicaux (Girodon, Blache, Monget, & Lombart, 1997). Le stress oxydant est la principale cause initiale de plusieurs maladies.

C'est le facteur potentialisant l'apparition des maladies plurifactorielles telles que le diabète, la maladie d'alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires. Mais l'activité antioxydante des extraits de plantes est essentiellement attribuée aux composés phénoliques en particulier aux flavonoïdes. Ainsi dans la détermination de l'activité antioxydante d'extraits de plante, la teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux est aussi déterminée dans le but d'établir une corrélation essentielle entre teneur en composés phénoliques et activité antioxydante et ou entre teneur en flavonoïdes et activité antioxydante.

Chapitre IV : La plante *Aristolochia Longa*

1. Présentation de la plante

A. longa est une plante de la famille des Aristolochiacées ; c'est une famille de plantes dicotylédones, qui comprend 500 espèces réparties en 7 genres. Ce sont des arbustes, des lianes ou des plantes herbacées des régions tempérées chaudes. Au Maroc, *A. longa* pousse dans l'anti atlas, le haut atlas, le moyen atlas et le rif (Fennane, Ibn Tattou, Ouyahya, & Eloualidi, 2007). Il y a Trois sous espèces d' *A. longa* L : *A. longa* paucinervis Pomel, *A. longa* fontanesie, *A. longa* pallida, la classification botanique d' *A. longa* est résumée dans le (Tableau 1).

Les espèces du genre *Aristolochia* sont productrices de composés aromatiques, des flavonoïdes (Liaw, Tsai, Lin, & Yen, 2012) (Ravikumar, Krishnan, & Ramalingam, 2007) (Ozcelik, Lee, & Min, 2003) des alcaloïdes, des acides aristolochiques et leurs sels de sodium. Diverses espèces du genre *Aristolochia* sont connues par leurs vertus thérapeutiques: anti-inflammatoire, analgésique, anticancéreuse et les maladies infectieuses. En dépit de leurs multiples vertus, les aristolochiacées contiennent une substance fortement toxique : l'acide aristolochique, qui induit des néphrotoxicités (Dawidowicz, Olszowy, & Józwick-Doleba, 2014) (Doughari, Human, Bennade, & Ndakidemi, 2009), entraînant l'interdiction de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) l'utilisation de tout remède naturel contenant cet acide.

A. longa a souvent été utilisée en médecine traditionnelle dans la région du Maghreb. Au Maroc, les racines séchées d' *A. longa* ont été utilisées pour le traitement des maladies cutanées, des affections intestinales, de la constipation, des blessures et comme antidote contre certaines morsures de serpents (Bellakhdar J., 1997).

L'Aristolochine, un des principes actifs de l'aristoloche, est toxique. Il provoque une irritation rénale allant jusqu'à la nécrose des éléments épithéliaux des reins et de l'hématurie associée à la paralysie des membres. Cette dernière agit aussi sur les capillaires et provoque de graves troubles respiratoires, des vomissements et des diarrhées.

Les parties des plantes produisent un grand nombre de substances actives. La diversité de ces substances et le fait qu'elles ne se rencontrent pas chez toutes les espèces végétales montre qu'elles n'entrent pas dans le métabolisme général. Ainsi elles sont connues sous le nom de métabolites secondaires. Ces derniers comportent deux types de composés :

- Les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance (Bruneton, 1999) ;

- Les composés azotés qui comprennent les alcaloïdes et les glycosides. Ces derniers relarguent de l'acide cyanhydrique quand les plantes sont abîmées. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. Ces métabolites jouent souvent un rôle de défense de la plante qui les fabrique (Bruneton, 1999).

Dans ce contexte, nous avons réalisé cette étude qui vise à valoriser les racines d'*A. longa.*, par la détermination des polyphénols et flavonoïdes totaux ainsi que l'évaluation des propriétés antioxydante des extraits hexanique, méthanolique et dichlorométhanique.

Tableau 1: Classification botanique d'*A. longa.*

Règne	Végétal
Famille	Aristolochiacées
Embranchement	Phanérogames
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Archichlamydées
Genre	Aristolochia
Espèce	Aristolochia longa
Sous-espèces	Aristolochia Paucinervis



Figure 7: Photo de la plante *Aristolochia longa*.

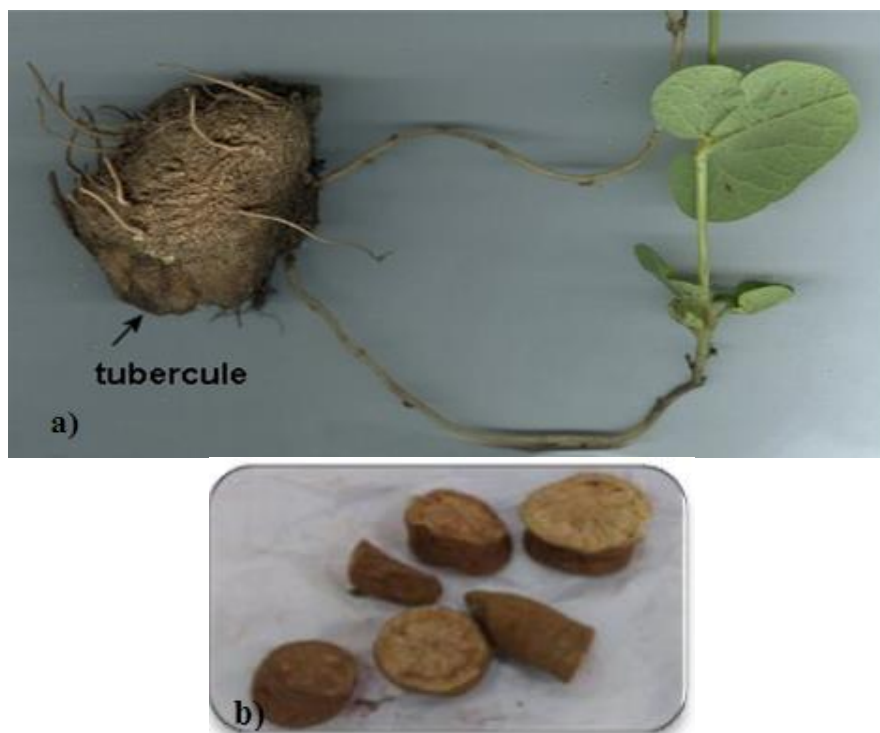


Figure 8: a) b) les racines d'*Aristolochia longa*.

2. Partie toxique de la plante

La plante d'*A. longa*. (*Bereztem*) est aujourd'hui reconnue comme un "produit très dangereux" par le Centre antipoison du Maroc (CAPM). Les vertus thérapeutiques, supposées de cette plante, dont la racine séchée est utilisée comme traitement de certaines maladies au Maroc, notamment dans la région de Fès, ne se fondent sur aucune preuve scientifique, la racine de *Bereztem* est fréquemment utilisée pour traiter l'une des pathologies les plus dangereuses, à savoir le cancer, ainsi que les maladies de "Boumezwi" (palpitations de l'aorte), la constipation, les affections intestinales, les maladies cutanées et les blessures. Selon le CAPM, des insuffisances rénales secondaires ont été relevées chez des cancéreux ayant utilisé, comme traitement, la racine de cette plante. Pour parer aux dangers de cette plante, il est recommandé de respecter les lois qui interdisent aux herboristes la vente des plantes toxiques, dont nous trouvons en premier lieu la *Bereztem*. L'utilisation de cette plante, pour traiter certaines maladies, est interdite. Jusqu'à l'exploitation d'autres plantes médicinales à des fins thérapeutiques. *Bereztem*, ou *A. longa*., selon son nom scientifique, a une acidité très concentrée au niveau de la racine, et l'Organisation mondiale de la santé la considère comme carcinogène (S. Skalli, CAMP, 2011).

3. Étude de la toxicité

Quelle que soit le type des Aristoloches, elles contiennent toutes de l'acide aristolochique. Ce principal élément actif est terrifiant car il est considéré comme une substance fortement toxique. Aucune dose sans effet toxique ce dernier n'a pu être déterminée. La famille des acides aristolochiques et aristolactames comprend des molécules mutagènes et cancérogènes pour l'estomac, la vessie, les reins les testicules (Figure 9). On l'accuse également d'être tératogène (Lejeunia revue de botanique, 2009).

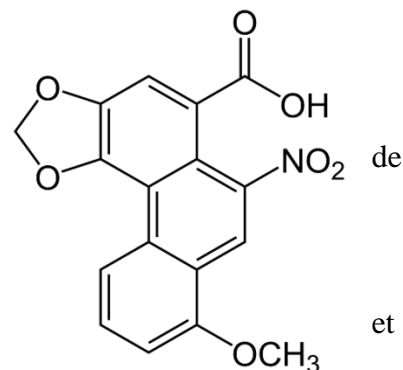


Figure 9: L'acide Aristolochique.

Chapitre V : Le champignon endophytique des plantes *Aristolochia sp*

1. Introduction

L'endophytisme des champignons est une interaction biologique qui se caractérise par le fait, pour un individu issu du règne Fungi, de coloniser l'intérieur d'un organisme végétal, de manière asymptomatique.

Les champignons endophytes sont majoritairement issus du phylum Ascomycota (Arnold, 2007) et présentent une grande diversité. Ils sont hétérotrophes et prélèvent des nutriments à l'hôte sans que celui-ci ne présente de quelconques signes de maladie. Ils peuvent croître dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire (Figure 10).

Les mycologistes utilisent le terme endophytes pour les champignons qui vivent à l'intérieur des tissus d'autres organismes sans causer des symptômes visibles. Les champignons pathogènes et parasites attaquent effectivement tous les organismes, à savoir les bactéries, les plantes, autres champignons et les animaux y compris l'homme. Les champignons font aussi des symbioses avec les insectes, les plantes et les lichens.

La diversité et la structure des communautés des champignons endophytes dans les plantes poussant en milieu extrêmement pollué, ainsi que leur rôle potentiel pour améliorer la phytoremédiation (Bourdel G, 2015), demeurent peu compris.

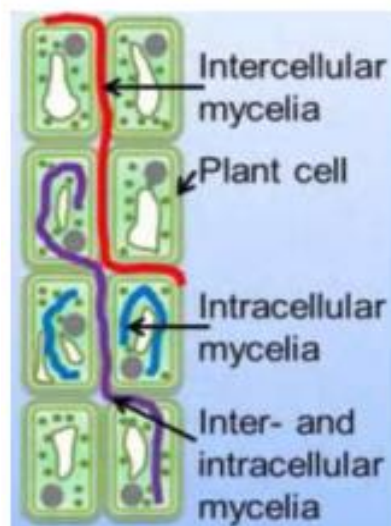


Figure 10: Modes de croissance des champignons endophytes dans les tissus des plantes hôtes (Kusari & Spiteller, 2012).

2. Les champignons endophytiques

Les champignons endophytiques vivant sans causer des effets négatifs dans les tissus des plantes ont été trouvés pratiquement dans toutes les espèces des plantes (Rodriguez RJ, 2009). La définition ainsi inclus un grand nombre des champignons, à partir des champignons pathogènes aux plantes et aux saprophytes jusqu'aux champignons non pathogènes. Ainsi, la distinction entre ces champignons endophytiques des plantes n'est pas claire et l'interaction entre le champignon et la plante hôte est souvent variable (Saikkonen k. , Faeth, Helander , & Sullivan, 1998).

3. Interaction entre les champignons endophytiques et la plante hôte

L'interaction entre le champignon endophytique et la plante hôte n'est pas bien claire jusqu'à maintenant. Il est possible d'imaginer que, quelques microbes endophytiques peuvent changer leur système génétique pour le transfert des informations entre eux même et les plantes et vice versa (Strobel G. , 2002). La très grande majorité des plantes terrestres entretiennent avec des champignons microscopiques du sol des relations étroites et variées. Parmi elles, les relations symbiotiques dites mycorhiziennes concernent près de 80 % des plantes dont une majorité de plantes de cultures. Ces symbioses assurent aux plantes un meilleur accès aux éléments minéraux du sol tel que le phosphore. Un autre cas de symbiose est observé dans quelques plantes dont les endophytes produisent des mycotoxines et enzymes qui inhibent la croissance bactérienne et des invertébrés herbivores (Tan & Zou, 2001). Les endophytes ont aussi un role tres important, ils permettent l'initialisation de la dégradation biologique des plantes hôtes mortes (Tan & Zou, 2001) (Zhang, Song, & Tan, 2006).

4. Les molécules d'intérêt thérapeutique produites par les champignons endophytes

Les champignons endophytes sont capables de produire des molécules d'intérêt thérapeutique très diverses tant sur le plan chimique que sur le plan de leurs activités. Nous retrouvons des alcaloïdes, des polycétides, des terpènes. Ces molécules possèdent un spectre d'activité pharmacologique très large, souvent avec des vertus antibiotiques, et parfois antiparasitaires voire anticancéreuses dans quelques cas quand ils sont utilisés chez les animaux, dont les humains.

Partie II : Matériel et Méthodes

Étude ethnobotanique de la Plante d'*Aristolochia longa* (*Bereztem*) utilisée dans le traitement de certaines maladies dans les villes de Rabat, Salé et Témara (Maroc).

La médecine complémentaire et traditionnelle est un sujet qui touche l'humanité, puisque nous sommes tous intéressés par notre santé. Actuellement, l'utilisation des plantes médicinales connaît une prévalence très importante dans le monde entier.

L'étude ethnopharmacologique est une science interdisciplinaire, qui s'intéresse aux médecines traditionnelles et aux remèdes constituant les pharmacopées traditionnelles, des autres peuples, dans le but est thérapeutique. Le programme d'ethnopharmacologie mis en œuvre dans une région donnée, se déroule en trois temps : un travail de terrain destiné à recenser l'ensemble des savoirs thérapeutiques, un travail en laboratoire qui consiste à évaluer l'efficacité thérapeutique des remèdes traditionnels, et en final un programme de développement de médicaments traditionnels préparés avec les plantes cultivées ou récoltées localement (Fleurentin, 2012).

L'objectif de ce travail est de réaliser une enquête ethnobotanique dans les villes de Rabat, Salé et Témara, auprès des herboristes, afin de préciser la dose exacte et la proportion des prescriptions de la plante de *Bereztem*, qui est supposée être toxique, et de recueillir l'ensemble des informations sur les effets thérapeutiques chez les consommateurs de cette plante médicinale.

Matériel et méthodes

L'enquête ethnobotanique sur le terrain a été menée pendant deux campagnes, en 2014 et 2015 dans les villes de Rabat, Salé et Témara. À l'aide de 176 fiches questionnaires, nous avons pu recueillir des informations concernant le profil de la personne interrogée (âge, sexe, niveau d'études, situation familiale et habitat) et les pratiques thérapeutiques utilisées par la population marocaine dans le traitement de certaines maladies par la plante de *Bereztem* (la partie utilisée et le mode de préparation). Nous nous sommes basés sur une fiche d'enquête (Annexe I) que nous avons remplis avec des réponses parfois difficilement divulguées par notre interlocuteur.

Avant de sortir sur le terrain pour mener l'étude ethnobotanique proprement dite, nous avons procédé à la localisation des différents points d'enquêtes montrés ci-dessous dans la zone étudiée. Nous avons pu visiter 22 lieux dans différentes localités pour les 3 villes (Figure 11).

Après avoir recueilli toutes les informations, un traitement informatique a été nécessaire. Pour traiter et analyser les résultats, nous avons utilisé le logiciel informatique SPSS version 21 (Statistical Package for Social Sciences) qui nous a permis d'effectuer un ensemble d'opération

en un temps court. Les documents ethnobotaniques de Fennane *et al.*, 2007, Hmamouchi M., 1999 ont été utilisées pour compléter les informations recueillies sur le terrain.

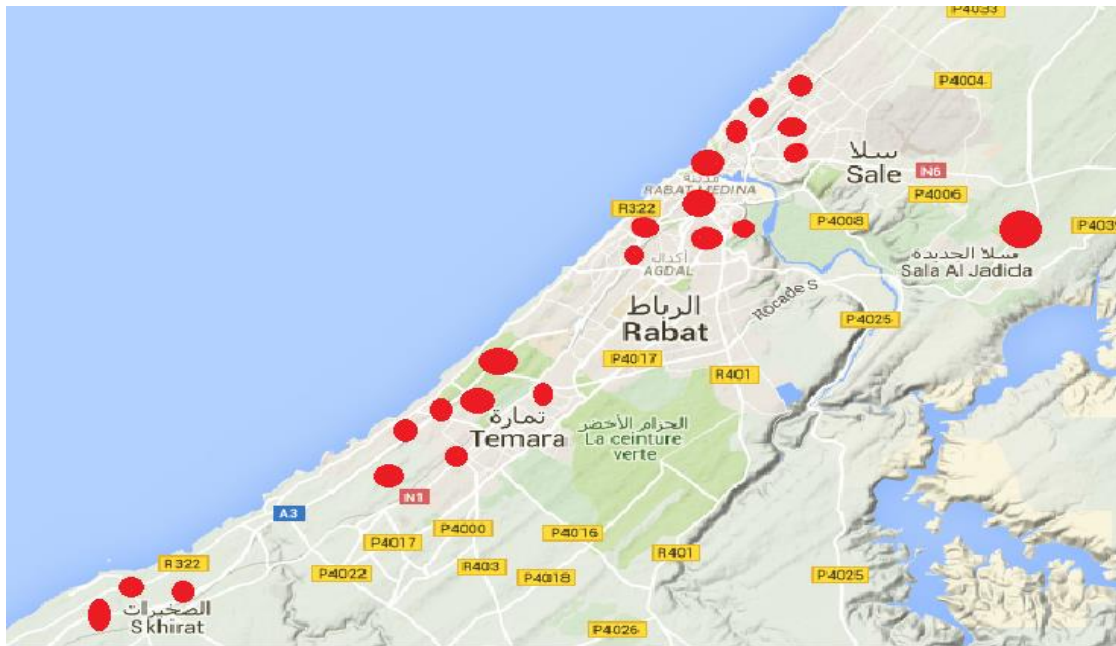


Figure 11: Répartition des points d'enquêtes ethnobotaniques réalisées dans les villes de Rabat, Salé et Témara

Isolement et purification du champignon endophytique des plantes *Aristolochia sp*

1. Identification par la biologie moléculaire

Le champignon a été identifié en utilisant les techniques de biologie moléculaire par l'amplification de l'ADN et le séquençage de la région ITS (Internal Transcribed Spacer). L'identification a été effectuée par Ine Dewi Indriani et Arnul Diesel à l'Institut für Pharmazeutische Biologie und Biotechnologie, [Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Allemagne](#).

Taxonomie du champignon *Fusarium Tricinctum*.

Le champignon *Fusarium tricinctum* a été isolé de la tige d'*Aristolochia paucinervis* qui pousse spontanément au Maroc. Cette plante a été collectée des montagnes de Beni-Mellal.

2. Identification par les critères morphologiques

Taxonomie de *F. tricinctum*.

- **Phylume** Ascomycota
- **Subphylume** Ascomycotes
- **Classe** Sordariomycetidae
- **Ordre** Hypocreales
- **Famille** Nectriaceae
- **Genre** *Fusarium*
- **Espèce** *Fusarium subglutinans*

3. Les composés isolés du champignon endophytique *Fusarium tricinctum*.

Ce champignon endophytique a été identifié comme *Fusarium tricinctum*, il est isolé du rhizome d'*Aristolochia paucinervis* qui pousse au Maroc. Le HPLC de l'extrait à l'acétate d'éthyle montre qu'Enniatin B, Enniatin B1 et Enniatin A1 sont les composés majeurs de l'extrait ([Thèse Abdessamad DEBBAB, 2007](#)).

Ethnobotanique, notes phytochimiques et propriétés antiproliférative, antibactérienne d'*Aristolochia longa*

L'objectif est d'évaluer les effets indésirables de la plante *A. longa*. et identifier l'ingrédient actif, responsable de la toxicité de cette plante, qui constitue un problème de santé publique au Maroc, vu sa large utilisation chez les patients cancéreux. Nous avons rassemblé les informations nécessaires sur cette plante, à l'aide d'une synthèse bibliographique, et nous avons présenté les propriétés pharmacologiques de ses extraits organiques, ainsi que quelques exemples de ses composés chimiques.

Méthodologie

Le présent examen a été réalisé à l'aide d'une recherche conçue des données scientifiques publiées sur l'usage ethnobotanique, les activités antibactériennes, les activités anticancéreuses et la phytochimie. Les recherches ont été effectuées en utilisant diverses bases de données ([PubMed](#), [Science Direct](#), [Scopus](#) et [Google Scholar](#)).

1. Les Etudes Botaniques d'*Aristolochia Longa*

Tableau 2: Les études botaniques d'*A. longa*.

La région	Partie utilisée	Mode de préparation	Usage thérapeutique	Référence
Moyen Atlas Central	Feuille et fruit	Infusion et décoction	Thérapeutique et cosmétique	Daoudi <i>et al.</i> , 2015
La Forêt de L'Achach (Plateau Central, Maroc)	Les racines	Décoction	Traitement des maladies de la peau, les palpitations de l'aorte (<i>biimezoni</i>), de la constipation et des infections intestinales, et sont aussi utilisées contre l'asthme et comme antidote des morsures de serpents.	Bammi <i>et al.</i> , 2002
La Ville de Khenifra (Maroc)	Plante Entière	Poudre	Utilisé en cas de kystes	Hachi <i>et al.</i> , 2015
La Région de Zaër (Maroc Occidental)	Les racines	Décoction	Utilisée contre les affections intestinales, et pour provoquer l'avortement chez les femmes.	Lahsissène <i>et al.</i> , 2009
Le Parc National de Talassemtane (Rif occidental du Maroc)	Plante Entière	Cataplasme	Affection Cutané, des Affections intestinales,	Allal, <i>et al.</i> , 2016.
Oasis de Tafilalet (Province d'Errachidia).	Racine	Broyer	Phytothérapie de la leishmaniose cutanée à <i>Leishmania major</i> au Tafilalet	El Rhaffari <i>et al.</i> , 2002
Sahara marocain (Tan-Tan)	Le Rhizome	Poudre et décocté	Traitement du diabète	Ghourri <i>et al.</i> , 2013

Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc)	Les Racines	Poudre	Traitement contre le cancer	Benkhnigue <i>et al.</i> , 2010-2011
---	-------------	--------	--------------------------------	--------------------------------------

2. La phytothérapie de la plante *Aristolochia Longa*

a- Les activités anticancéreuses

Tableau 3: les activités anticancéreuses de la plante *Aristolochi Long*.

Partie utilisée	Type d'extrait	Test utilisée	Effet	Référence
Les racines	Extrait de méthanol Extrait d'éthanol Extrait dichlorométhane	A549(Poumon), HCT-116(colon), PC3 (prostate), A431 (peau), HeLa (col de l'utérus) et THP-1 (leucémie) SRB.20e22 leucémie lymphoïde L1210	les extraits de racines de <i>Aristolochia</i> possèdent des activités anticancéreuses significatives in vitro et in vivo des extraits de l'éthanol et le dichlorométhane: Méthanol	James Akindele et al., 2015
plante entière	Extraits avec l'hexane, du dichlorométhane et du méthanol	Des lignées cellulaires cancéreuses du rein (ATCC N ° CCL-81)	L'extrait hexanique d' <i>Aristolochia. Longa</i> et l'acide dichlorométhanique Extrait d' <i>Aristolochia. Longa</i> a présenté un effet cytotoxique significatif contre la majorité des lignées de cellules tumorales utilisées.	Aneb et al., 2016

b- Les activités antibactériennes

Tableau 4: les activités antibactériennes de la plante *Aristolochi Longa*.

Partie utilisée	Type d'extrait	Test utilisée	Souches testés	Effet	Référence
plante entière	Extraits avec l'hexane, du dichlorométhane et du méthanol	Méthode de diffusion de puits d'agar	Rhodococcus equi, Rhodococcus sp GK1 et Rhodococcus sp GK3	Extrait hexane et extrait dichlorométhane présentaient un fort effet d'inhibition de la croissance sur Bactéries testées. aucune activité significative n'a été observée avec extrait méthanol	Aneb et <i>al.</i> , 2016
Les racines	Extrait avec l'hexane	Disque de diffusion	Enterococcus faecium ATCC 19434, Streptococcus agalactiae, Staphylococcus aureus ATCC 6538, deux bactéries Gram négatif Escherichia coli ATCC 8739 et Salmonella typhimurium ATCC 14028 et le champignon Candida albicans ATCC10231. Les souches microbiennes (E. coli, S. aureus et C. albicans)	L'huile essentielle d' <i>Aristolochia Longa</i> a présenté des niveaux variables d'activité antimicrobienne contre <i>S. typhimurium</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. aureus</i> et <i>C. albicans</i> , alors qu'elle n'était pas active contre <i>E. coli</i> . L'activité la plus élevée a été observée contre <i>S. agalactiae</i> qui était particulièrement sensible aux huiles essentielles d' <i>Aristolochia L.</i> Les bactéries gram-positives semblent Plus sensibles aux huiles essentielles examinées que les bactéries gram-négatives.	Dhouioui et <i>al.</i> , 2016

Le risque des intoxications par les plantes les plus utilisées en phytothérapie au Maroc

Les plantes sont à l'origine de 5,1 % des intoxications, signalées durant la période 1980 à 2002, au Centre AntiPoison du Maroc (CAPM), toutes causes confondues, en dehors des piqûres et envenimations scorpioniques, prenant en compte la sous-notification des cas d'intoxication par les plantes.

Parmi les disciplines scientifiques qui s'intéressent à la phytothérapie traditionnelle, l'ethnobotanique est considérée comme une science qui permet de traduire le savoir-faire populaire en savoir scientifique. En effet, divers travaux ont été publiés depuis les dernières décennies sur le savoir ethnobotanique marocain, au nombre desquels nous citerons : (Bellakhdar, 1987 & 1997 ; Benchaâbane & Abbad, 1997; Hmamouchi, 1999; El Rhaffari (2002); Hseini & al., 2011 ; Mehdioui, 2007; Lahsissène & al., 2009; Salhi & al., 2010; Tahri & al., 2012) etc.

Ce travail a pour objectif de mettre en évidence les intoxications, causées par les plantes les plus utilisées par la population marocaine chez les patients atteints du cancer. Présenter les résultats d'une étude rétrospective, réalisée sur une série de cas allant de 1980 à 2012, qui constitue la base de données des cas d'intoxications par les plantes, dans le Centre AntiPoison et de Pharmacovigilance du Maroc, afin d'en décrire les caractéristiques sociodémographiques, cliniques et thérapeutiques et de mettre le point sur la toxicité de ces plantes utilisées en phytothérapies.

Méthode d'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective des cas d'intoxications par les plantes recueillis au Centre AntiPoison et de Pharmacovigilance du Maroc, sur une durée de vingt-huit ans, allant de Janvier 1980 à Décembre 2012.

Après avoir recueilli toutes les informations, un tableau Excel a été établi pour rassembler les différentes plantes toxiques utilisées en phytothérapie au Maroc, avec leur nom vernaculaire et scientifique (Hmamouchi, 2001; Bellakhder, 1997). Pour traiter et analyser les résultats, nous avons utilisé le logiciel informatique SPSS version 20 (Statistical Package for Social Sciences) qui nous a permis d'effectuer un ensemble d'opération en un temps court.

L'analyse descriptive globale a porté essentiellement sur la répartition selon les années, le sexe, la tranche d'âge, la répartition géographique, les circonstances et les effets indésirables.

Certaines plantes non toxiques peuvent avoir un effet nocif sur divers organes humains ou animaux, du fait de leur emploi à des doses excessives ou de leur absorption pendant une longue durée.

Dosage des polyphénols, flavonoïdes et activité antioxydante

1. Matériel : Préparation des extraits

Dans l'extracteur placé sur un ballon contenant le solvant (éthanol, eau), on insère une cartouche dans laquelle est placée la poudre de *Berzetem*, un réfrigérant est adapté au-dessus de l'extracteur. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs du solvant se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, le liquide accompagné de substances extraites retourne dans le ballon. Extrait aqueux

Les extraits de la plante (les racines) ont été préparés par infusion de 30 minutes de 2 g de poudre dans 100 mL d'eau distillée. Ces solutions subiront une évaporation d'eau - par le système T- pour obtenir l'extrait aqueux de la racine d'*A. longa.*, l'extrait subira le dosage de la teneur des polyphénols et flavonoïdes.

2. Extraits organiques

Nous avons réalisé la macération de la poudre des différentes plantes (25 g de poudre dans 100 ml de solvant), en laissant pendant trois jours à température ambiante et en agitant à raison de 70 tours/ minutes. Le mélange est filtré sur papier filtre puis sur papier Watman. Le filtrat obtenu est concentré sous vide à l'aide d'un rotavapeur et, les résidus obtenus sont ensuite placés dans un dessiccateur afin d'éliminer totalement le solvant. Les extraits obtenus sont stockés dans des récipients opaques à -12 °C, à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation. A ce stade, le rendement est calculé à partir de l'extrait final par rapport au poids de la plante sèche.

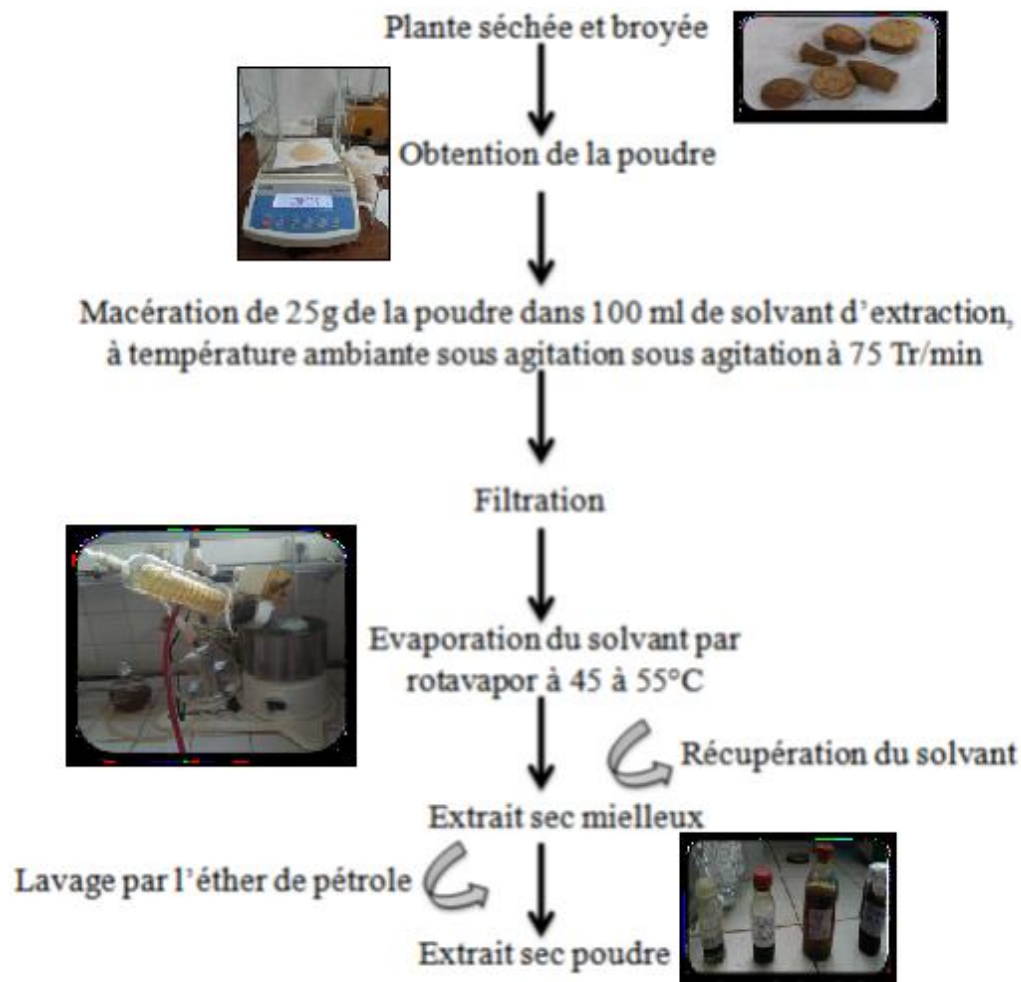


Figure 12: Protocole de préparation des extraits de plantes.

3. Méthode de dosage des composés phénoliques

3.1 Dosage des polyphénols totaux

Pour le dosage des phénols totaux, les extraits sont dilués à une concentration de 1 mg/mL. 100µl de l'extrait dilué sont mis dans des tubes à essai, puis 500µl du réactif de Folin-Ciocalteu dilués 10 fois dans de l'eau distillée sont additionnés (Singleton, Orthofer, & Lamuela-Raventos, 1999). Après une incubation d'une heure à température ambiante, 2 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2 % sont ajoutés. Les tubes sont ensuite agités et placés à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. Les mêmes étapes ont été suivies pour établir une gamme étalon (0 à 100µg/mL) préparée à partir d'une solution mère aqueuse d'acide gallique (0.5 g/L). La lecture de l'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, à une longueur d'onde de 760 nm. Les valeurs de l'absorbance de chaque concentration nous ont permis de tracer la courbe

d'étalonnage de Soixante Acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique par g d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait sec). Toutes les manipulations ont été réalisées en triple.

Les valeurs de concentration sont directement lues à partir des droites d'étalonnage établies à l'aide de la solution de référence d'acide gallique, de la forme $Abs = a \times [AG] + b$. La concentration de l'échantillon est exprimée en mg d'équivalent de l'étalon par gramme d'extrait sec ou de matière sèche. Où : a représente la pente et b l'ordonnée à l'origine du droit étalon.

La gamme d'acide gallique est tracée pour des concentrations comprises entre 0 et 1000 mg/l.

3.2 Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (LAGNIKA, 2005)

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Kima, Kunihisa, & Kunihisa, 2005), avec quelques modifications.

Dans un tube à hémolyse en verre, 1mL de l'extrait des plantes est mélangé avec 1mL de la solution trichloride d'aluminium (2%) et une goutte d'acide acétique. Les tubes sont ensuite agités légèrement et incubés à l'obscurité pendant 40 minutes à température ambiante. Dans les mêmes conditions, une solution mère de quercétine de concentration massique 0.2 g/L a été préparée avec le méthanol. A partir de cette solution mère, une gamme étalon de concentrations allant de 0 à 25 µg/mL a été préparée. L'absorbance est mesurée à l'aide du spectrophotomètre à une longueur d'onde de 415 nm. Les valeurs de l'absorbance ainsi obtenues nous ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de la quercétine. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent quercétine par g d'extrait sec (mg EQ/g d'extrait sec). Toutes les manipulations sont réalisées en trois essais.

5. Etude de l'activité antioxydante

5.1 Principe de la méthode

Le stress oxydant, cause de plusieurs maladies, nécessite la recherche de nouveaux remèdes antioxydants. Les antioxydants les plus connus sont le β-carotène (provitamine A), le tocophérol (vitamine E) et l'acide ascorbique (vitamine C) (Aganga & Mosase, 2001). Ce dernier s'effectue à température ambiante et cela permet d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles (Aganga & Mosase, 2001). Le test de l'activité antioxydante est réalisé par le DPPH (2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle). Elle permet de mesurer le pouvoir réducteur du DPPH par le calcul de l'IC50 des substances antioxydantes contenues dans nos extraits.

5.2 Test de piégeage du radical DPPH

La mesure de l'activité antiradicalaire a été testée selon la méthode spectrophotométrique de Blois, telle qu'elle a été adaptée par Brand-Williams et al. (1995). Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) en solution dans le méthanol. L'addition d'un antioxydant dans une solution de DPPH conduit à un changement de coloration du violet foncé (DPPH stable) au jaune ou incolore (DPPH réduit). Ce changement est directement proportionnel à la capacité antioxydante du produit ajouté, il est déterminé indirectement par mesure de densité optique par spectrophotométrie UV-VIS à 517 nm. Des aliquotes (0.2 ml) de diverses concentrations (62.5-1000 µg / ml), des extraits de plantes, ont été ajoutés à 1.8 ml d'un mélange de 0.004 % de solution méthanolique de DPPH. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée contre un blanc à 517 nm (N. Piriou-Deslandes, 2012). Le pourcentage (%) pour éliminer le radical DPPH a été calculé par la formule suivante :

Activité de balayage DPPH (AA en%) = $[(Ac-At) / Ac] \times 100$, où, Ac est l'absorbance du contrôle (sans extrait), et At est l'absorbance du test (avec extrait). Le Trolox et l'acide ascorbique ont été utilisés comme témoins positifs. La concentration d'extrait, fournissant 50 % de l'inhibition de DPPH (IC50), est calculée à partir de la courbe tracée de la capacité d'inhibition (AA en %) contre les concentrations d'extraits et de normes en utilisant des équations de régression linéaire.

5.3 Mode opératoire

L'activité antioxydante a été déterminée suivant la méthode de Kubola et Siriamornpun avec quelques modifications. En bref, 1,8 ml d'une solution de DPPH à 0,1 mM, sont préparés dans le méthanol et versés dans des tubes contenant 0,2 ml d'extrait (méthanolique ou éthanolique) à des concentrations croissantes (0 µg / ml - 1000 µg / ml) puis, placés à l'abri de la lumière à température ambiante après agitation par vortex. Après 30 min, l'absorbance est mesurée à 517 nm. L'acide ascorbique (vitamine C) et Trolox sont servis comme contrôles positifs alors que le méthanol est servi comme contrôle négatif.

L'activité de piégeage du radical DPPH est calculée selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{échantillon}})}{Abs_{\text{contrôle}}} * 100$$

Abs contrôle : absorbance sans antioxydant (contenant tous les réactifs sauf l'échantillon à tester)

Abs échantillon : absorbance avec l'échantillon à tester.

L'IC₅₀ est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés : pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et les standards.

5.4 Matériel végétal et préparation des extraits

Dans l'extracteur placé sur un ballon contenant le solvant (éthanol, eau), nous insérons une cartouche dans laquelle est placée la poudre de Berztem, un réfrigérant est adapté au-dessus de l'extracteur. Quand le ballon est chauffé les vapeurs de solvant se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, le liquide accompagné de substances extraites retourne dans le ballon. Le solvant est vaporisé puis condensé, tout en restant en contact avec le matériel végétal. La solution collectée dans le ballon s'enrichit, de plus en plus, en soluté à chaque cycle d'extraction, et le matériel végétal est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé. L'extraction est terminée lorsque le solvant d'extraction devient de plus en plus clair, c'est-à-dire sans proportion significative de soluté. Le solvant est évaporé, sous pression réduite, à l'aide d'un rotavapor (figure 13) à une température (°C) donnée selon le solvant d'extraction.

Pour l'extraction aqueuse et éthanolique par la méthode de Soxhlet, nous avons utilisé :

35 g de Berztem + 160 ml d'éthanol

45 g de Berztem + 400 ml l'eau

Pour l'extraction par la méthode de macération, nous ajoutons 70 g de la poudre de Berztem au solvant dont le volume est égal à 200 ml, nous agitons le mélange et nous le laissons au repos pendant une nuit afin d'extraire les parties solubles qui se trouvent dans la poudre.

70 g de Berztem + 200 ml hexane

70 g de Berztem + 200 ml méthane

70g de Berztem + 200ml dichlorométhane 25

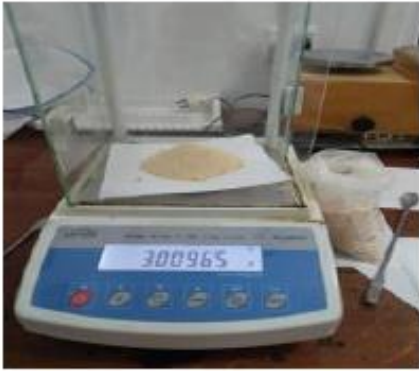


(a)



(b)

Figure 13: Méthode d'extractions des plantes.



Test chimique

Méthode de Bruneton pour réaliser les tests phytochimiques.

➤ Épuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude :

45g dont 400ml (eau)

Montage dans un extracteur soxhlet pendant une nuit.

Amidon : nous chauffons 5 ml de l'extrait aqueux avec une solution 10 ml de NaCl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition, nous ajoutons quelques gouttes du réactif d'amidon.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée.

Saponosides : nous ajoutons d'un peu d'eau à 2ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. En suite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en Saponosides est évaluée :

- Pas de mousse : test négatif
- Mousse moins d'un cm : test faiblement positif
- Mousse 1-2cm : test positif
- Mousse plus de 2 cm : test très faible

Tanins: 1 ml de l'extrait aqueux + 1ml d'eau+ 1 à 2 gouttes de solution de Felc3 diluée.

L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins.

➤ Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol :

35 g matériel végétal en présence de 160 ml d'éthanol.

Montage dans un extracteur soxhlet pendant une nuit.

Filtration du mélange et l'extrait ethanologique est soumis aux tests suivants :

Flavonoïdes : 5 ml de l'extrait éthanolique + 1 ml HCL concentré + 0.5 de tournures de magnésium.

La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes dit **Flavonols**, si une couleur violette dit **flavonones**, si une couleur orange dit **Flavones**.

Tanins : 1 ml de l'extrait éthanolique + 2 ml d'eau + 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ diluée.

Un test est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noir (**tanins galliques**), bleu-verte (**tanins cathechiques**)

Autres métabolites secondaires :

Anthocyanes : 2ml d'infusé aqueux +2ml de HCL 2N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu violacé par addition d'ammoniac (NH₄OH) indique la présence d'anthocyanes.

Coumarines : 1g d'échantillon de la poudre végétal est placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier inhibé d'une solution de NaOH est porté dans un bain-marie pendant quelques minutes.

Puis nous ajoutons 0.5 ml de NH₄OH dilué (10%) et nous mettons 2 tâches sur un papier filtre qui sont examinées sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des tâches confirme la présence des coumarines

Stérols et tri terpènes : elle se fait sur une macération de 24 h à 5% dans l'éther. L'extrait étherique est ensuite évaporé à sec et repris avec l'anhydride acétique puis du chloroforme. Déposer au fond du tube contenant l'extrait du de l'acide sulfurique. En cas de réaction positive il se forme un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des 2 liquides, si nous avons la formation d'une phase rouge violacée (**triterpénoïdes**), si la phase est bleue (**stéroïdes**).

5.5 Test au DPPH

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH⁺ (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) est stable à température ordinaire et présente une couleur violette bien caractéristique. Les antioxydants présents dans l'échantillon le réduisent, ce qui entraîne une décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm.

Etape1

Etape1: Extrait Hexane	Extrait Méthanol	Extrait Dichloromethane
50mg dans 50ml hexane	50mg dans 50ml méthanol	50mg dans 50ml méthanol

Etape 2:

Tableau 5: les Tests au DPPH de différentes extraits de la plante.

	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
Hexane	0,9DPPH+ 100µl ext hexane	0,9DPPH+ 50 µl ext + 50 µl hexane	0,9DPPH+ 25 µl ext + 75µl hexan	0,9DPPH+ 12,5µl ext+ 87,5µl hexane	0,9DPPH+ 6,25µl ext+ 93,75µl hexane
Méthane	0,9DPPH+ 100µl ext méthane	0,9DPPH+ 50 µl ext+ 50 µl methane	0,9DPPH+25 µl ext + 75µl methane	0,9DPPH+ 12,5µl ext+ 87,5µl methane	0,9DPPH+ 6,25µl ext+ 93,75µl méthane
Dichoro- méthane	0,9DPPH+ 100µl ext méthane	0,9DPPH+ 50 µl ext+ 50 µl methane	0,9DPPH+ 25 µl ext + 75µl methane	0,9DPPH+ 12,5µl ext+ 87,5µl methane	0,9DPPH+ 6,25µl ext+ 93,75µl methane
Contrôle hexane	0,9DPPH+ 93,75µl hexane				
Contrôle méthane	0,9DPPH+ 93,75µl methane				

Les tubes sont placés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 min, afin d'étudier la densité optique de chaque échantillon à l'aide de la spectrophotométrie.



Figure 14: Résultats de Test de DPPH.

Étude de l'activité antibactérienne et antiproliférative

1. Étude de l'activité antibactérienne

1.1. Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes, utilisées pour tester l'action de nos extraits, ont été choisies sur la base de leur appartenance des groupes pathogènes, et/ou incriminées dans le processus d'altération des aliments. La conservation de ces souches est faite dans un mélange de glycérol et de bouillon cœur cerveau (BHI). Pour une conservation de courte durée, les souches sont maintenues sur un milieu gélosé incliné à 4 °C. Avant leur utilisation, les bactéries sont vérifiées par deux subcultures dans un milieu de culture approprié, à 37 °C pendant 18h à 24h. Le tableau 6 présente les souches bactériennes utilisées et leurs origines.

Tableau 6: Souches bactériennes utilisées dans les tests antibactériens et leurs origines.

Souche	Origine
<i>Escherichia coli</i> K12	Laboratoire de microbiologie alimentaire, UCL, Belgique (MBLA)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IH	Institut d'hygiène Rabat
<i>Rhodococcus equi</i> (GK1, GK2, GK3)	Laboratoire de biochimie et d'immunologie De Rabat
<i>Bacillus subtilis</i> 6633	Collection Allemande des microorganismes DSM

1.2 Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion dans le milieu de Mueller-Hinton

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé en utilisant le milieu de culture l'agar. Le principe de cette technique consiste estimer l'activité bactériostatique des produits antibactériens en mesurant les zones d'inhibition de croissance des germes autour de plusieurs puits contenant différentes concentrations des produits testées. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, cette méthode est surtout utilisée en tant qu'étape préliminaire des études plus approfondies, car elle permet d'accéder des résultats essentiellement qualitatifs (Bouhdid, Zhiri, & Abrini, 2019) (Figure 15).

Des disques des antibiotiques l'**Ampicilin**, l'**Amodoxycillin** et la **Doxycyline**, des disques de papier Wathman stériles (6 mm de diamètre) imprégnés dans les extraits dilué par le DMSO%, et des disques de papier Wathman stériles (6 mm de diamètre) imprégnés dans le DMSO% et H2O.

Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 24 heures à 37°C. L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition.

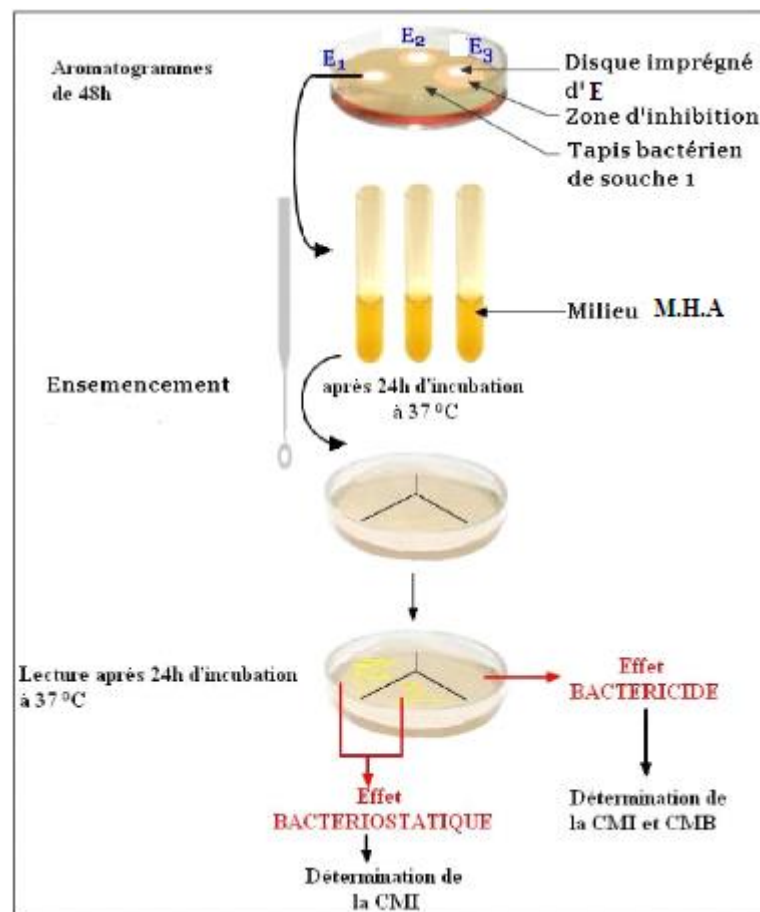


Figure 15: Diamètre d'inhibition exprimée dans la technique de diffusion en puits.

Pratiquement, 8 ml du milieu Muller Hinton Agar (MHA) sont coulés dans des boîtes de Pétri vides. Sur cette couche basale sont déposés de petits cylindres (moules en verre) de 8 mm de diamètre, Un volume de 6 ml de milieu de Lauria-Bertoni (LB), contenant 0.8 % d'agar, est ensemencé par une culture fraîche de la bactérie indicatrice, de telle sorte que l'on ait une concentration finale d'environ 10^6 UFC / ml. Cette préparation est coulée délicatement sur la couche basale de MHA. Après solidification, les moules cylindriques sont enlevés, générant à leur emplacement des puits de 8 mm de diamètre. Ces derniers sont remplis de 50 μ l du produit à tester. Les boîtes sont ensuite scellées pour éviter l'évaporation des produits à tester. La diffusion de différents constituants du produit testé dans le milieu gélosé, est améliorée par une pré-incubation des boîtes de Pétri pendant 2 h à 4 °C. Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à la température adéquate 37 °C pendant 24 h. L'activité antibactérienne du produit se révèle par l'apparition de zones d'inhibition autour des puits.

2. Étude de l'activité antiproliférative

2.1 Lignées cellulaires testées

Dans cette étude, nous avons utilisé la lignée cellulaire cancéreuse obtenue auprès de l'Institut National d'Hygiène de Rabat. Ces cellules sont issues de la collection ATCC (American Type Culture Collection, USA). **1) Lignée RD** : Cellules de rhabdomyosarcome embryonnaire humaine (ATCC N°CCL-136), **2) Lignée L20B** : Cellules de rhabdomyosarcome embryonnaire des souris (3T6 Swiss albino, ATCC CCL96) et **3) Lignée Vero** : Cellules cancéreuses de rein de singe vert (ATCC N°CCL-81). Outre leur disponibilité, ces lignées ont été choisies grâce à leur entretien et culture relativement faciles. Elles sont également stables au cours du repiquage. *In vitro* les cellules sont réfringentes et développent une couche monocellulaire. Les CMSP (*Peripheral blood mononuclear cell* : *PBMC*) sont utilisées comme des cellules normales dans le test antiprolifératif pour évaluer le niveau de toxicité des produits testés. Immédiatement après la collecte, les échantillons de sang ont été dilués avec un volume égal de milieu essentiel minimal MEM et stratifiés sur Ficoll (Pancoll, Biotech) pour la séparation progressive des cellules. La couche de PBMC a été recueillie après centrifugation à 300 g pendant 30 min, puis lavée deux fois avec du MEM. Les PBMC ont été remises en suspension dans le milieu MEM (Riedhammer *et al.*, 2010). Dans ce travail et à la fin de l'incubation, du MTT est rajouté (10 µl de MTT, 5 mg/ml) dans chaque puits, durant une période de 4 h. La réaction est arrêtée par ajout de 200 µl de DMSO, les densités optiques (DO) sont lues après 30 minutes d'incubation à température ambiante sur un lecteur de microplaques-ELISA à 560nm. La viabilité des cellules est calculée après conversion des DO en pourcentage de viabilité puis comparée, d'une part à la viabilité de la souche sans ajout des extraits et d'autre part par le glucantime. L'IC₅₀ (concentration inhibant 50% de la croissance cellulaire) est déterminée en fonction du pourcentage d'inhibition de la viabilité de la cellule aux concentrations de composés donnés.

2.2 Culture des cellules

La culture de ces cellules se fait dans les milieux de culture MEM (Gibco). Ce milieu est une solution nutritive de couleur rose, supplémenté avec 10% de sérum de veau foetal et d'un mélange de pénicilline-streptomycine-néomycine (Sigma) (Aneb, *et al.*, 2016). L'incubation de cellules se fait dans l'étuve à 37°C en atmosphère humide enrichie de dioxyde de carbone. Afin de conserver des cellules souches dans des conditions optimales de croissance, il faut repiquer les cellules 48 heures après.

Dès leur arrivée à confluence, les cultures sont traitées pour être repiquées en sous-culture. La technique largement utilisée consiste à recouvrir les cellules, préalablement débarrassées de leur milieu (MEM) et lavées, dans une solution diluée de trypsine (Sigma) : c'est la trypsination. Cette opération permet de décoller les cellules, du fond du support, par dissociation des liaisons intercellulaires, et d'éliminer les cellules mortes. Pour réaliser la trypsination des cellules, nous éliminons le milieu de culture de flasques à trypsiner. Puis nous lavons les cellules et nous déposons de la trypsine dans les flasques. Les flasques sont ensuite incubées de 3 à 5 min à 37 °C (temps nécessaire à l'action de trypsine). Après avoir totalement dissocié les cellules, l'action de trypsine est ainsi arrêtée par l'ajout du milieu de culture complet. Nous avons entrepris plusieurs opérations successive, d'aspiration et de refoulement, afin de décoller les cellules, les suspensions cellulaires sont ensuite centrifugées à 1500 rpm pendant 5 min. Le culot est récupéré et resuspendu dans le milieu frais, pour être ensemencé dans plusieurs flasques pour l'entretien, ou, dans des microplaques de 96 puits, à fond plat, pour le test de cytotoxicité.

Pour la conservation des cellules, nous avons adopté la méthode de congélation, la méthode la plus utilisée pour la conservation de longue durée. En effet, les très basses températures ont été utilisées pour la conservation des tissus biologiques, dans le but de bloquer les phénomènes physico-chimiques, qui mènent à l'altération fonctionnelle ou totale, durant le stockage, des suspensions cellulaires que l'on souhaiterait sauvegarder. Les cellules trypsinées sont lavées et conservées en utilisant le DMSO comme produit de conservation. Les cellules sont mises dans le milieu de culture pour la conservation (90% de ce milieu contient 20 % SVF + 10 % DMSO). La congélation est réalisée à -80°C. Ensuite, les ampoules contenant ces cellules congelées, sont transportées dans un bac contenant de la glace, puis sont mises dans un bain marie à 37 °C. Le contenu de l'ampoule décongelé, est versé dans un tube contenant 13 ml de milieu complet. Les cellules sont centrifugées 400 g pendant 5 min et remises en suspension dans le milieu de culture complet, après avoir éliminé le surnageant.

2.3 Évaluation de l'activité cytotoxique par le test MTT

La viabilité cellulaire est mise en évidence par un test colorimétrique basé sur la capacité des cellules vivantes à réduire le MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) en cristaux de formazan bleu. Le test MTT permettra de déterminer les fractions actives parmi les produits testés. Le test se réalise sur les plaques à fond plat de 96 puits. Les plaques sont préparées 48h avant la réalisation du test. Pour cela, nous disposons dans chaque puit d'une suspension de cellules (à raison de 50.000 cellules/puit). Le dénombrement se fait au microscope avec utilisation

d'une lame de Malassez pour le comptage des cellules viables et des cellules mortes de couleur bleue. Le bleu trypane (Sigma) est un colorant qui pénètre dans les cellules mortes ce qui leur donne une couleur bleue. Les plaques sont ensuite incubées dans une étuve à 37°C, sous une atmosphère saturée en eau 64 enrichie de 5% de CO₂. Après 24h d'incubation 100 µL de substance à tester à différentes concentrations sont déposées en triplica dans les puits et mises en incubation pendant 48h à 37°C. Quatre heures avant la fin d'incubation, 20 microlitres de MTT sont ajoutés dans chaque puits. Le temps de contact est de 4 h dans une étuve à 37°C à 5% de CO₂. Les cellules viables ont alors métabolisé le MTT en cristaux de formazan. À l'aide d'un microscope inverse, nous visualisons l'état des cellules. Ensuite, afin de pouvoir effectuer la lecture par spectrophotométrie, il est nécessaire de solubiliser les cristaux de formazan éventuellement formés. Pour cela, nous retirons 100 µL de chaque puit à l'aide d'une pipette, les cellules restent dans le fond des puits. Nous ajoutons ensuite 100 µL de tampon de lyse (isopropanol/ HCl) dans chaque puit et nous agitions la plaque jusqu'à une solubilisation complète. Enfin, l'absorbance (D.O) est mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaque à 550 nm ([Merghoub et al., 2009](#) ; [Abdeljabar et al., 2009](#) ; [Aneb et al., 2016](#)).

Les cellules non traitées avec les produits testés sont utilisées comme témoin négatif. Le pourcentage de cytotoxicité est ainsi calculé à l'aide de la formule suivante : % Cytotoxicité = $(\text{AbsT} - \text{AbsC}) / (\text{AbsT}) \times 100$ D'où : Abs T : absorbance des cellules non traitées (témoin) et Abs C : absorbance des cellules traitées. L'IC₅₀ (concentration inhibant 50% de la croissance cellulaire) est déterminée en fonction du pourcentage de cytotoxicité aux concentrations des produits testés. L'indice de sélectivité pharmacologique (ISP) est un paramètre intéressant qui définit l'équilibre entre l'effet pharmacologique des composés et leur toxicité. Il correspond à la concentration active la plus élevée contre les cellules cancéreuses sans toxicité contre les cellules normales. Il s'exprime comme le rapport entre la valeur d'IC₅₀ sur les cellules normales / IC₅₀ sur les cellulaires cancéreuses ([Essid, Msaada, & Rahali, 2015](#)).

Partie III : Résultats et discussion

Étude ethnobotanique de la Plante *Aristolochia longa* (*Bereztem*) utilisée dans le traitement de certaines maladies dans les villes de Rabat, Salé et Témara (Maroc).

Les informations collectées de cette étude ethnobotanique ont été inscrites sur des fiches de données brutes puis transférées dans une base de données, traitée et analysée. Cela permet de rassembler le maximum d'informations sur la fréquence d'utilisation de cette plante médicinale dans les trois villes, de savoir la partie utilisée de l'espèce végétale, des modes de préparation et des usages thérapeutiques et traditionnelles les plus communément mentionnés.

Fréquence d'utilisation des plantes médicinales selon le profil des enquêtés

1.1 Utilisation de la plante *Bereztem* selon la tranche d'âge

L'utilisation de cette plante médicinale dans la zone d'étude de Rabat, Salé et Témara est répandue chez toutes les tranches d'âge, avec une prédominance chez les personnes âgées de 40 à 50 ans (31 %). Cependant, pour la tranche d'âge de 20 à 30 ans, nous notons un taux de 28 %. Les tranches d'âge [30-40], et [50-60] viennent ensuite avec un pourcentage respectivement de 20%, et 16%. Les personnes âgées de plus de 60 ans présentent un pourcentage de 1%. Alors que pour les personnes très jeunes (<20 ans), le pourcentage est très faible (4%). Chez les jeunes, nous notons un faible pourcentage d'utilisation de cette plante médicinale par rapport aux autres classes d'âges. Ceci peut-être expliquer par le manque d'expérience et la faible transmission du savoir faire des personnes âgées vers les jeunes (figure 16).

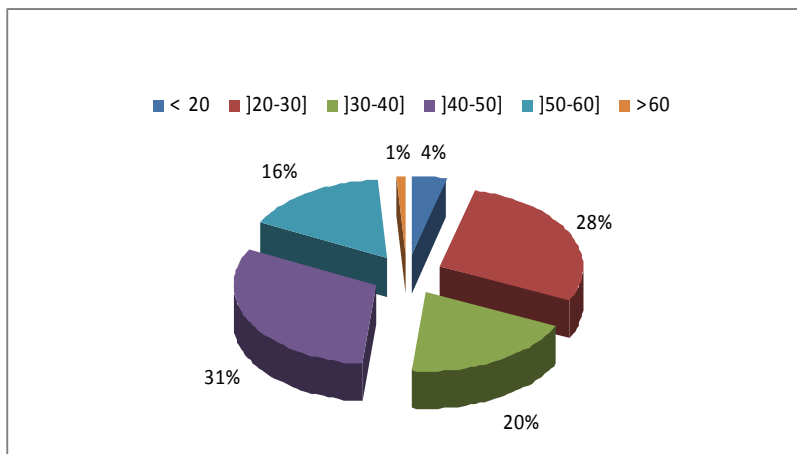


Figure 16: Répartition de pourcentage d'utilisation de la plante *Aristolochia longa* selon la tranche d'âge.

1.2 Utilisation de la plante de *Bereztem* selon le sexe

Les femmes et les hommes utilisent cette plante, avec une prédominance des femmes. En effet, 57% des femmes enquêtées utilisent cette plante médicinale contre 43% des hommes (Figure 17). Héritières d'un riche savoir familial par la transmission des connaissances, elles témoignaient avant tout, d'un savoir adapté à leur famille et à leurs besoins (Aquaron, 2005). Ces résultats confirment d'autres travaux ethnobotaniques réalisés à l'échelle nationale, qui ont montré que les femmes sont plus détentrices du savoir phytothérapeutique traditionnel, cas de l'étude de Benlamdini *et al.* faite en 2014 du Haut Atlas oriental (Haute Moulouya) et de l'étude de Benkhighe faite en 2011 dans la région de Mechraâ Bel Ksiri.

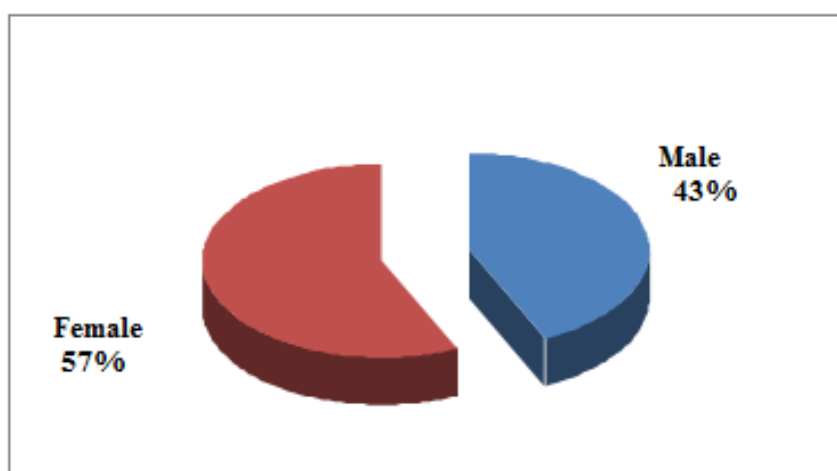


Figure 17: Répartition de pourcentage d'utilisation de plante la *Aristolochia longa* selon le sexe.

1.3 Utilisation de la plante *Bereztem* selon le niveau d'étude

Dans la zone d'étude de Rabat, Salé et Témara, la grande majorité des personnes questionnées connaissant l'usage de *Bereztem* sont universitaires, avec un pourcentage de 46 % (figure 18). Ceci peut être expliqué par le fait que les étudiants, les professeurs universitaires et les fonctionnaires ont une connaissance sur l'utilisation des plantes médicinales et leurs usages thérapeutiques. Toutefois, les personnes ayant un niveau d'études primaire et collège ont un pourcentage de connaissance non négligeable (25 %). Celles des analphabètes, ils utilisent très peu cette plante avec un pourcentage de 19%. Les plantes médicinales peuvent être dangereuses lorsqu'elles sont utilisées inconsciemment, et cela s'affirme chez les personnes analphabètes qui ne peuvent pas comprendre précisément les consignes verbales transmises par les herboristes et les guérisseurs (Benlamdini, Elhafian, Rochdi, & Zidane, 2014).

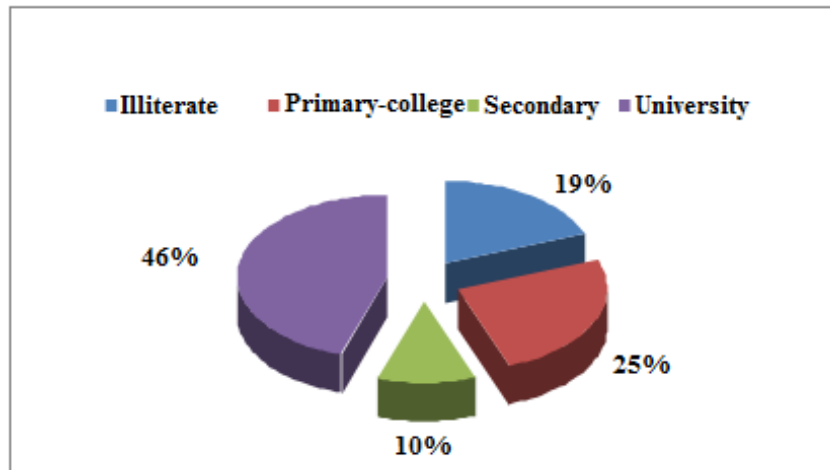


Figure 18: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante *Aristolochia Longa* selon le niveau d'étude.

1.4 Utilisation de la plante *Bereztem* selon la situation familiale

Cette plante est beaucoup plus utilisée par les personnes mariées (49 %) que par les personnes divorcées (5 %) ou veuves (5%). Ceci peut être expliqué par le fait qu'ils sont responsables en tant que parents à donner les premiers soins en particulier pour leurs enfants.

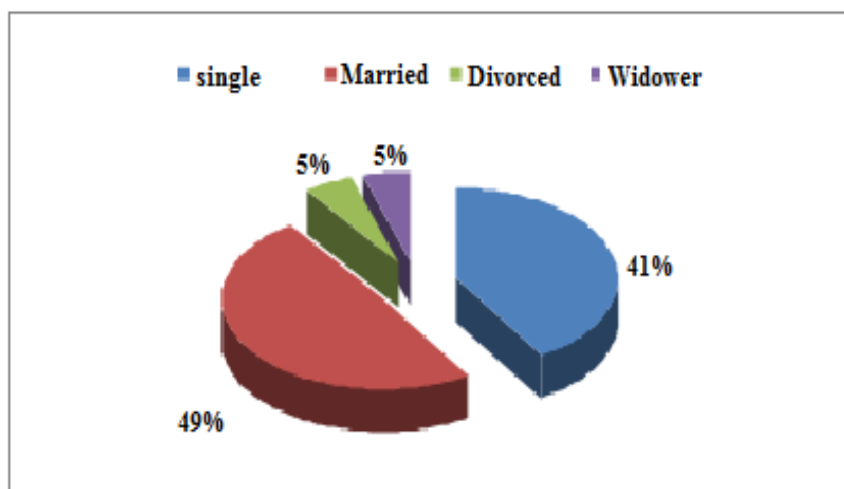


Figure 19: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante *Aristolochia Longa* selon la situation familiale.

1.5 Utilisation de la plante *Bereztem* selon le revenu mensuel

Il ressort des enquêtes que l'utilisation de la médecine moderne est corrélée avec la stabilité ou la régularité du revenu (Colloque International de SIFEE, Paris- septembre 2010). Cette situation pourrait s'expliquer par la pauvreté des populations. Par contre, l'utilisation de la médecine traditionnelle semble être beaucoup plus motivée par la facilité de son acquisition et par son cout réduit qui est deux à quatre fois moins cher par rapport à la médecine moderne. C'est le cas de cette étude qui montre que les personnes sans revenu mensuel ont le pourcentage le plus élevé d'utilisation de la plante *Bereztem*, soit de 38%. Alors que les personnes à revenu mensuel modeste de (250-1500Dhs) et les gens à revenu mensuel moyen (155-5000Dhs) ont une fréquence relativement importante de 22%. Par contre les gens à revenu mensuel plus que moyen et meilleur ont des connaissances sur l'utilisation d'*Aristolochia longa* non négligeables avec une fréquence respective de 10% et 8% (Figure 20).

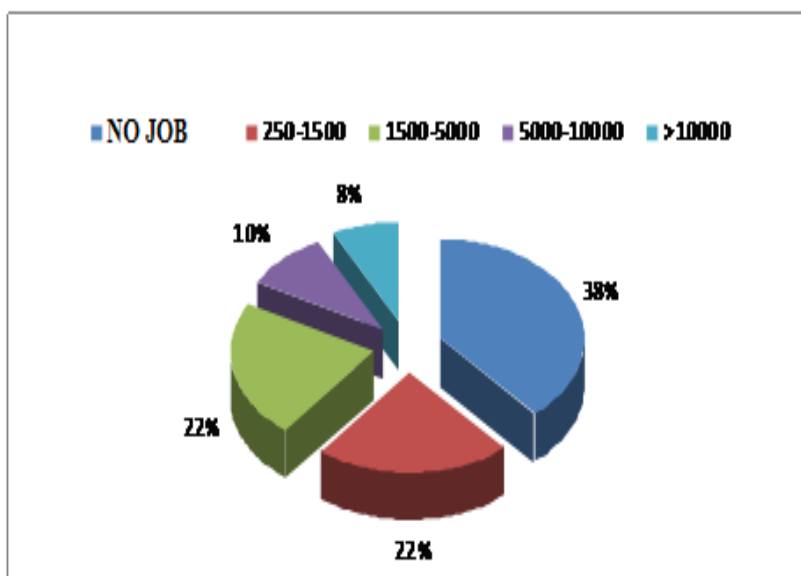


Figure 20: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante *Aristolochia Longa* selon le revenu mensuel.

1.6 Utilisation de la plante *Bereztem* selon la dose

La plus part des utilisateurs interrogés sur cette plante dans les trois villes de Rabat, Salé et Témara l'utilisent avec des doses non précises.

Un surdosage peut se manifester par des effets néfastes sur la santé. La population étudiée utilise cette plante médicinale avec des doses non précises avec un pourcentage de 94.8%. Alors que 5.2% de ces populations les utilisent avec des doses bien précises (Figure 21).

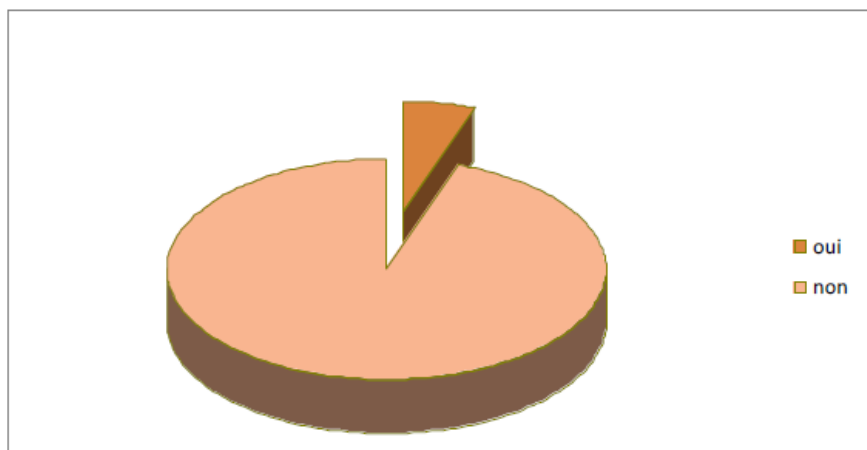


Figure 21: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante *Aristolochia Longa* selon la dose.

1.7 Utilisation de la plante *Bereztem* selon l'origine de l'information

La plus grande partie des informations recueillies concernant l'origine de l'utilisation thérapeutique de cette plante sont les expériences des autres, avec un pourcentage de 49%. Ceci reflète l'image de la transmission relative des pratiques traditionnelles d'une génération à l'autre. Achab-Atar ou bien l'herboriste prennent une place importante avec 23% comme deuxième source d'information. La lecture présente un pourcentage de 19% ce qui signifie que les gens commencent à s'intéresser à la médecine traditionnelle vu les avantages qu'elle offre. La catégorie des pharmaciens ont un pourcentage de 5%, les médias viennent en dernière position avec un pourcentage de 4% (figure 22).

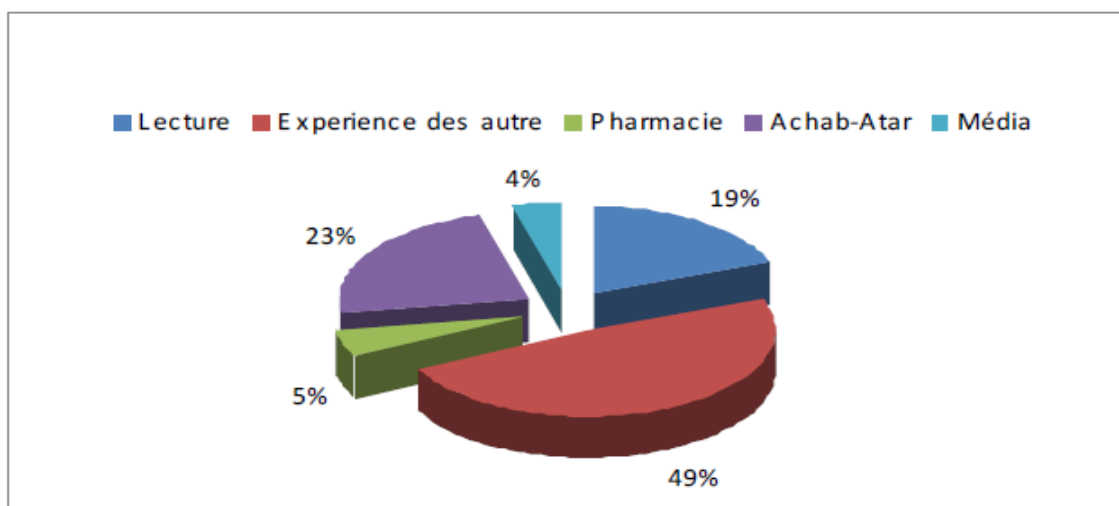


Figure 22: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante *Aristolochia longa* selon l'origine de l'information.

1.8 Les effets de l'utilisation de cette plante médicinale

D'après notre étude, 44 % des gens de la région de Rabat, Salé et Témara pensent que cette plante permet une guérison des maladies traitées. Les effets secondaires et les intoxications viennent ensuite avec des pourcentages égaux (17%). Il a été déclaré des états de toxicité et même une aggravation de la maladie surtout chez les gens atteints du cancer. 9 % estiment que la plante bereztem permet seulement une amélioration de l'état de santé. La catégorie "aucun idée" représente un pourcentage de 11%.

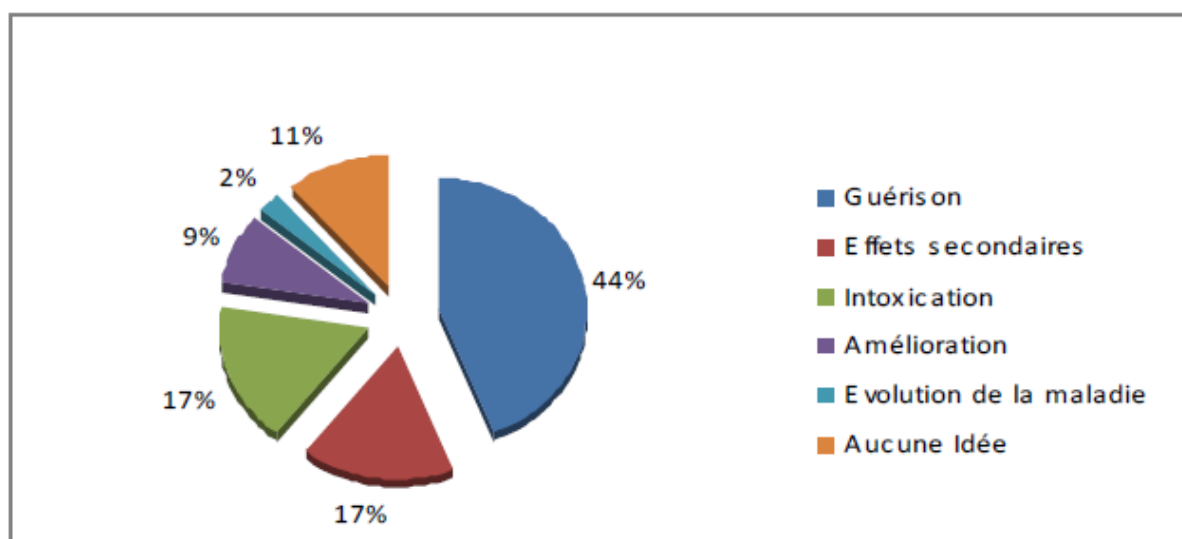


Figure 23: Répartition du pourcentage des personnes questionnées selon les effets d'utilisation de la plante *Aristolochia longa*.

2. Utilisation thérapeutique de la plante *Bereztem*

2.1 Parties utilisées

Chaque partie de la plante a des propriétés thérapeutiques différentes. Pour cela, les plantes médicinales peuvent être utilisées entières, ou en partie (feuille, tige, racine, bulbe, fleur). Dans notre région d'étude, l'utilisation de la partie souterraine est prédominante avec un pourcentage de 67% (Figure 24). La plante entière occupe la deuxième place avec un pourcentage de 20%. La feuille occupe une place moyenne avec un taux de 10%. Les autres parties ont des pourcentages inférieurs à 2%.

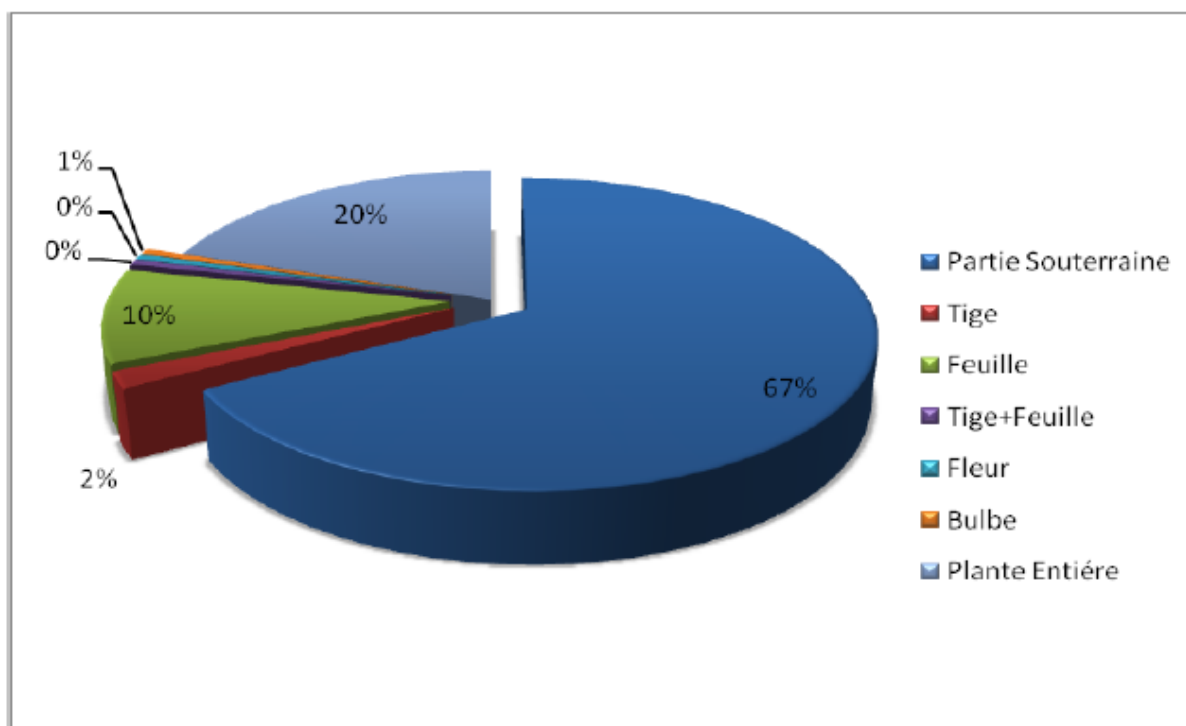


Figure 24: Répartition du pourcentage d'utilisation de la plante *Aristolochia longa* selon la partie utilisée.

2.2 Mode de préparation

La poudre constitue le mode de préparation le plus fréquent (57%). La plante séchée et broyée pour obtenir une poudre et mélangée avec le miel. Le deuxième mode de préparation est l'infusion 25% (Figure 25). Cette méthode consiste à verser un liquide bouillant sur la partie utilisée de plante la médicinale. Les utilisateurs cherchent toujours la méthode la plus simple pour préparer les phytomédicaments. La décoction, avec un pourcentage de 8%, elle permet de recueillir le plus de principes actifs et atténue ou annule l'effet toxique de certaines recettes (Tahri, El basti, Zidane, Rochdi, & Douira, 2012).

En effet, ces résultats ont été confirmés par des études similaires effectuées dans d'autres régions du Maroc à titre d'exemple : Etude ethnobotanique: Plantes médicinales commercialisées à la province de Laâyoune; identification et utilisation.

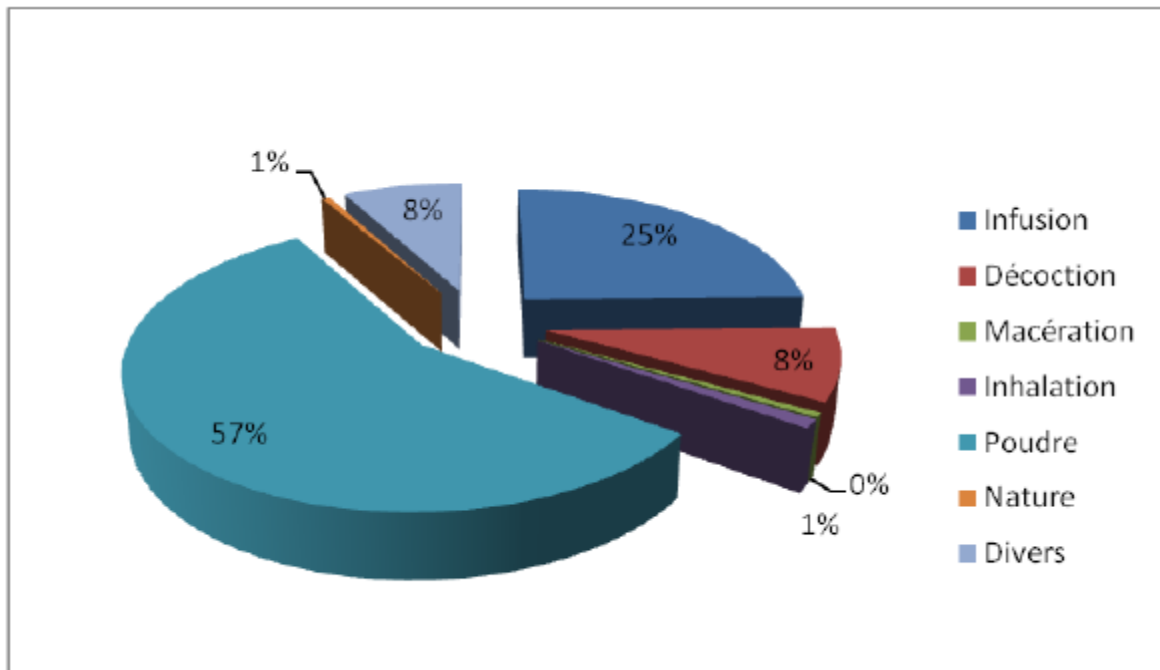


Figure 25: Pourcentage d'utilisation de la plante *Aristolochia longa* selon le mode de préparation.

2.3 Maladie et médecine traditionnelle

Ce travail contribue à une meilleure connaissance des soins traditionnels pratiques dans les villes de Rabat, Salé et Témara.

Cela nous a permis de répertorier un certain nombre de maladies chroniques traitées par la plante *Bereztem*. Les résultats (Figure 26) montrent que cette plante intervient dans le traitement des affections cancéreuses avec un pourcentage de 24,9%, suivi par les affections rénales (5,6%), les plaies ulcérées (5,1%). Cette plante est utilisée aussi pour grossir, pour le traitement de boumazwi, des problèmes intestinaux et du diabète avec des pourcentages respectifs de 4,6%, 4,1% et 3,6%. Le reste des maladies (avortement, problème de menstruation, cicatrice, et traitement de la fièvre, l'appétit...) ont un taux moins de 3%.

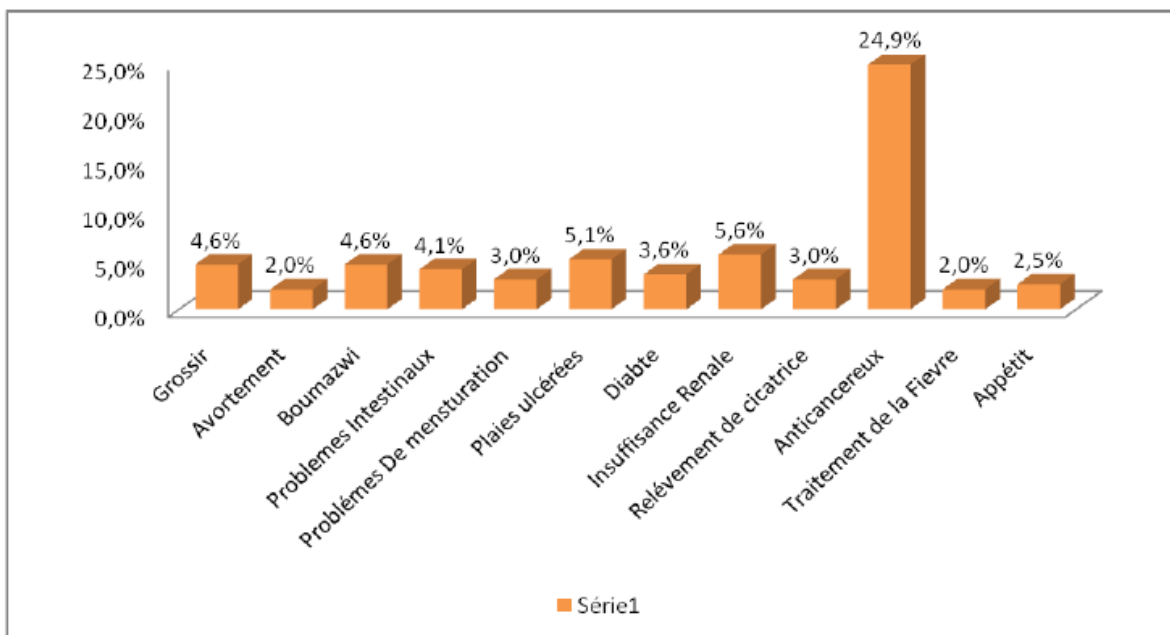


Figure 26: Répartition du pourcentage d'utilisation d'*Aristolochia longa* selon la maladie a traitée.

2.4 Conclusion

Au Maroc, *A. longa*, ou bien *Bereztem* est une plante administrée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle. Elle doit sa toxicité à l'acide aristolochique qui est très concentré au niveau de la racine et que l'Organisation mondiale de la santé considère comme carcinogène, c'est-à-dire capable de provoquer un cancer. Les racines, pulvérisées, associées au henné sont utilisées pour traiter les maladies de la peau. Elles sont utilisées également, seules ou en décoction, contre l'asthme (Kahouadji, 1995). L'Aristolochie est une plante abortive employée autrefois lors des accouchements. La racine de *Bereztem* est fréquemment utilisée pour traiter l'une des pathologies les plus dangereuses, à savoir le cancer avec un pourcentage de 24,9%, ainsi que les maladies de palpitations de l'aorte (Boumezwi), de la constipation, des affections intestinales, des maladies cutanées, des blessures. Cette plante reste quand même mal employée dans la phytothérapie moderne car elle présente des risques de toxicité et des effets secondaires avec des pourcentages égaux (17%).

La fréquence d'utilisation de l'aristolochie dans la zone d'étude de Rabat, Salé et Témara est très liée au profil des personnes enquêtées. Ainsi, les jeunes, comparés aux personnes âgées, ne connaissent généralement pas l'utilité de cette espèce. Les femmes et les hommes ont un savoir médicinal partagé, avec un léger avantage allant aux femmes. L'étude ethnobotanique réalisée dans la région, nous a permis de révéler une multitude de résultats sur l'utilisation de cette plante médicinale, ses parties utilisées ainsi que sur les maladies traitées. En effet, ces résultats ont été

confirmés par des études similaires effectuées dans d'autres régions du Maroc à titre d'exemple :
Etude ethnobotanique ; plantes médicinales commercialisées à la province de laïyoune ;
identification et utilisation. La population étudiée utilise cette plante médicinale avec des doses
non précises avec un pourcentage de 94.8%.

Risque d'intoxication par les plantes les plus utilisées en phytothérapie au Maroc

Depuis 1980 à 2012, le CAPM a recueilli 428 cas d'intoxication avec les plantes médicinales utilisées pour le traitement de certaines maladies, notamment le cancer dans toutes les régions du Maroc.

Tableau 7 : Répartition des plantes citées selon leurs indications thérapeutiques.

Scientific name	Local name (vernacular)	Type de cancer
<i>Nigella sativa</i>	Sanouj, haba saoudaa	Général
<i>Peganum harmala</i>	Alharmal	Général
<i>Thymus ssp</i>	Zitra	Digestif
<i>Camellia sinensis</i>	Ataye	Digestif
<i>Artemisia absinthium</i>	Chiba	Digestif
<i>Lavandula officinalis</i>	Khazama	Le système urinaire et génital
<i>Euphorbia resinifera</i>	Daghmous	Général
<i>Lawsonia inrenis</i>	Henna	Peau
<i>Trignoella foenum-graecum</i>	Halba	Digestif
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Mkhinza	Amygdale
<i>Nerium oleander</i>	Deflla	Gingival
<i>Aristolochia longa</i>	Berreztam	Général
<i>Artemisia vulgaris</i>	Chih	Digestif
<i>Capparis spinosa</i>	Kebbar	Lymphome
<i>Aloe vera L.</i>	Aloe vera, aloès amer ou mazambron	Général
<i>Zingiber officinale</i>	Skingbire	Général
<i>Glycine max</i>	Soja	Général

1. Catalogue des plantes les plus utilisées en phytothérapie au Maroc

Parmi les 428 cas d'intoxication, 17 ont été relevées au cours de cette étude rétrospective, dont 5 plantes potentiellement toxiques : *Peganum harmala* (50%), *Nigella sativa* (11%), *Lawsonia inermis* (7,5%), Laurier-rose (5,8%), *Chenopodium ambrosioides* (5,1%) (Figure 27). Douze plantes non toxiques pouvant devenir toxiques parce qu'elles contiennent des composés phytochimiques, qui ont des effets bénéfiques sur la santé du corps et de l'esprit. Utilisées à petites doses, ces plantes procurent un bien-être physique et mental. Par contre, à fortes doses elles peuvent devenir toxiques. Par exemple, certains extraits à base de plantes, telles que le *Camellia sinensis* (Thé vert), *Artemisia absinthium* (Chiba), *Zingiber officinale* (Skingbir)...

Ces résultats confirment d'autres études rétrospectives réalisées à l'échelle nationale, ils ont montré que les principales plantes ayant provoquées des intoxications au Maroc durant ces dernières années, selon le CAPM, sont le chardon à glu avec 10,6% de cas, le cannabis avec 10,1% suivi du Harmel avec 4,6%, la stramoine représente 3,6% d'intoxications et le ricin 2,3%, le cadier suit avec 1,3% de cas, le Henné et le pavot représentent chacun 0,7% de cas, le laurier rose 0,6%, la noix de muscade 1% et la nigelle 1%, enfin la mandragore avec un pourcentage de 0,5% (Rhalem, Khattabi, Soulaymani, Ouammi, & Soulaymani, 2008).

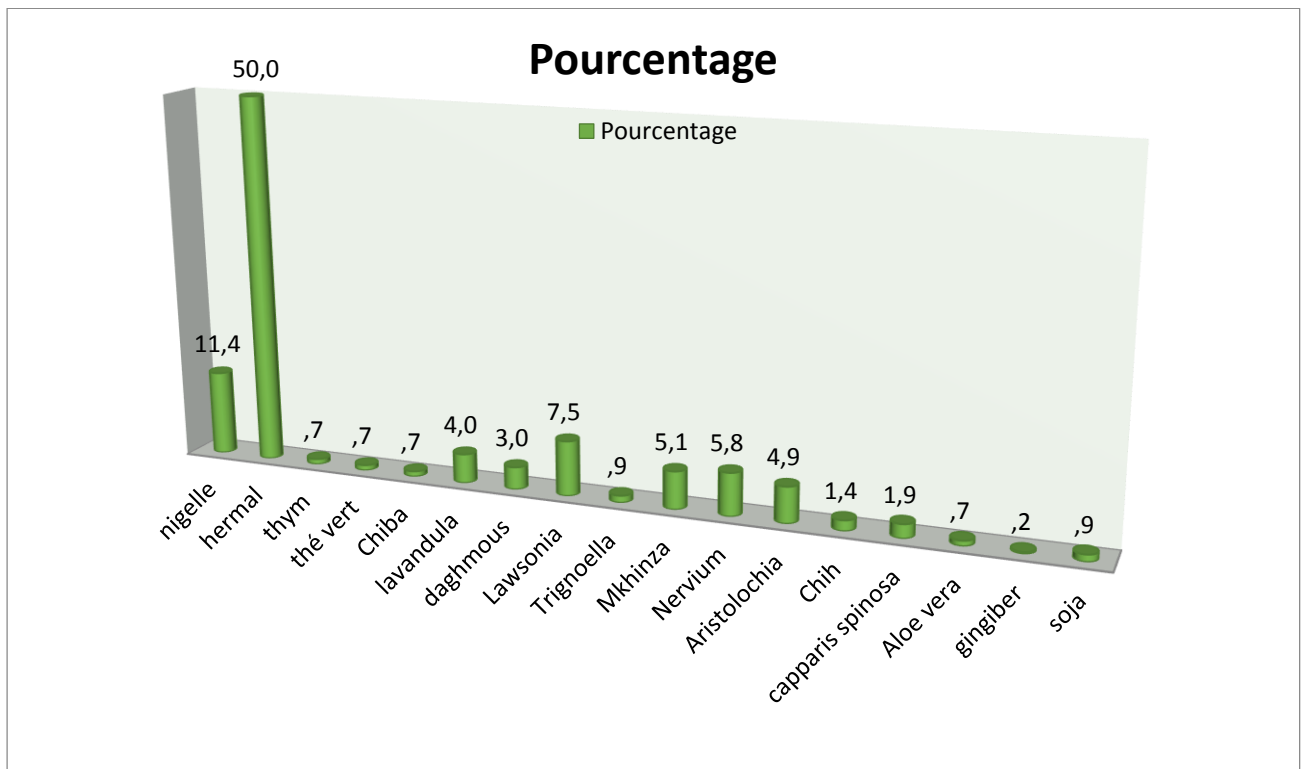


Figure 27: Répartition du pourcentage d'utilisation des plantes toxiques.

Peganum harmala

Le *Peganum harmala* est une plante de la famille des *Zigophyllaceae*, connue en arabe par son nom *Harmel*. C'est une plante herbacée, vivace, glabre, buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur à rhizome épais, à odeur forte, désagréable qui rappelle celle de la rue. Les tiges dressées, très rameuses disparaissent l'hiver ; elles portent des feuilles alternes, découpées en lanières étroites (Figure 28) (Hmamouchi M. , 1997).



Figure 28: Photographie de la plante *Peganum harmala*.

Ses fleurs sont solitaires et son fruit est une capsule à 3 loges contenant des graines anguleuses. Le Harmel se rencontre en Afrique du Nord et en Espagne.

Au Maroc, le harmel est utilisé pour traiter différents troubles gynécologiques comme la stérilité féminine, mais aussi l'impuissance sexuelle. Certaines femmes y recourent en tant qu'abortif. C'est un hypnotique, antipyrétique, antalgique, antitussif, antidiarrhéique chez le nourrisson. Antiseptique et cicatrisant, Nous en utilisons pour traiter certains problèmes cutanés, dermatoses (eczémas) et brûlures, conjonctivites purulentes et blépharites et alopecies.

Toute la plante est toxique par l'intermédiaire d'un alcaloïde dont le taux est plus élevé dans la graine (3 à 4%) que dans la racine ou la tige (0,36%) ou encore la feuille (0,52%) (Giampietro et al., 2008).

Nigella sativa

Nigella sativa (la nigelle) de la famille des *Ranunculaceae*, en arabe *Sanouj*, est une plante herbacée, annuelle, à tige dressée, d'une hauteur de 60 cm, portant des feuilles bi- ou tripennatiséquées (Figure 29).

La plante est hermaphrodite à reproduction autonome. Le fruit correspondant à l'ensemble des follicules soudés forme la capsule contenant plusieurs graines triangulaires blanchâtres qui, lorsque la capsule s'ouvre à maturité, elles sont exposées à l'air et deviennent noires.

Originnaire des régions méditerranéennes et d'Asie occidentale, la nigelle est cultivée jusqu'en Inde, en passant par le Soudan et l'Éthiopie. La nigelle est anti-inflammatoire, analgésique, antibactérienne, antifongique, antioxydante, antivirale, antidiabétique, hypotensive, stimulante, digestive et diurétique (Boskabady, Mohsenpoor, & Takaloo, 2010). Elles sont toxiques par la présence de mélanthine. Les intoxications par la nigelle sont manifestées par : la sécheresse de la bouche, irritation buccopharyngée, inflammations de la langue, du palais, des amygdales et du rhinopharynx (Ali & Blunden, 2003).



Figure 29 : Photographie de la plante *Nigella sativa*.

Lawsonia inermis

Le *Henné* est un arbuste épineux de la famille des *Lythracées*, dont les feuilles produisent des teintures, telles que le rouge et le jaune, utilisées depuis l'antiquité en teinture textile et corporelle. Un parfum très apprécié est extrait de ses petites fleurs (Figure 30) (Georgiou, Sianidou, Hatzis, Papadatos, & Koutselinis, 1988).



Figure 30: Photographie de la plante *Lawsonia inermis*.

Le henné pousse à l'état naturel, dans les régions tropicales et subtropicales d'Afrique, d'Asie du Sud et d'Australasie. Sous des latitudes comprises entre 15 et 25° (N et S) de l'Afrique au Pacifique.

Le henné est présent dans la culture maghrébine, où les femmes l'utilisent en cataplasme, ainsi que pour décorer la plante de leurs pieds et la paume de leurs mains. Dans les campagnes marocaines, elles l'appellent «feuille duparadis», car elles voient dans l'application du henné un message d'amour, une invitation au plaisir et une promesse du bonheur (Ben M'rad, et al., 2004).

Considéré par les Maghrébins comme une plante médicinale de premier ordre, en raison de ses vertus astringentes, antiseptiques et cicatrisantes, il est employé en cataplasmes contre l'eczéma, les mycoses, les furoncles, les abcès ou panaris, les gerçures et les contusions... ou pour réduire l'inflammation et la douleur des entorses, luxations, fractures...

La partie utilisée est la feuille (Zviak & Sidi, 1966) (Searl & Jones, 1977). L'utilisation du henné, d'origine végétale, pose peu de problèmes pour la santé. Les principes toxiques sont le tanin, le mucilage, les pigments flavonoïques et naphthoquinoniques (Ames, Kammen, & Yamasaki, 1975). Lors de l'application cutanée, le henné est reconnu comme peu ou pas toxique, c'est un faible agent sensibilisant. Par ingestion, nous observons une sévère diarrhée sanglante, des douleurs abdominales et une congestion pulmonaire. Le traitement se base sur l'application de crèmes à base de corticoïdes. Les corticoïdes par voie générale sont parfois nécessaires (Shafer & Shafer, 1975).

Nerium oleander

Le laurier rose (*Nerium oleander*), en arabe «*Defla* », est un arbuste ornemental de 2 à 4 m de haut, fleurissant de juin à septembre, à fleurs roses, parfois rouges ou blanches, et à feuilles allongées en vert mat (Figure 31). Toute la plante est toxique (feuille, fleur, graine, sève et bois), mais les feuilles sont reconnues pour leur toxicité. Le laurier rose est la troisième plante citée parmi celles incriminées dans les intoxications équine. L'ingestion d'une seule d'entre elles par un adulte peut entraîner des vomissements, des diarrhées, des troubles cardiaques et être mortelle. Cette plante est utilisée pour lutter contre la gale, les coliques, les céphalées, le rhume et considérée comme abortive (Flesch, 2005; Barbosa, 2008).



Figure 31: Photographie de la *Nerium oleander*.

Toute la plante est toxique et renferme des cardénolides, dont l'oléandrine de structure proche à celle des hétérosides digitaliques. Les cardénolides inhibent l'activité des Na^+K^+ -ATPase. La dose toxique est de quelques feuilles ou de quelques fleurs. Le laurier rose fait parti des catégories des plantes dangereuses et sans grand intérêt thérapeutique (Jouad, Haloui, Rhiouani , & El Hilaly, 2001). Une seule feuille peut être mortelle pour l'homme. Du simple problème de digestion au signe de défaillance cardiaque, les symptômes varient suivant la quantité ingérée.

M'khinza

Ansérine vermifuge (*Dysphania* *ambrosioides*, autrefois nommée *Chenopodium ambrosioides*, aussi appelée fausse ambroisie, thé du Mexique, ou épazote, est une plante herbacée, annuelle ou vivace de 30 cm à 1 m de haut, couverte de glandes sessiles qui la rendent visqueuse et fortement aromatique.

Sa tige est généralement striée de rouge. Feuilles entières, lancéolées ou sinuées-dentées. Inflorescence très ramifiée et feuillée, dégageant une odeur lorsqu'elle est froissée. Elle pousse dans les champs incultes, sur les bords des chemins et dans les lieux abandonnés (Figure 32) (Kamal, 1997).



Figure 32: Photographie de la *M'khinza*.

Au Maroc, nous l'utilisons en tant que vermifuge, galactogène, contre les affections gastro-intestinales, le typhoïde, la dysenterie, les abcès buccaux, les ulcérations de la fièvre. L'huile essentielle de la plante est utilisée comme anthelminthique, elle est assez toxique, surtout chez l'enfant. La plante, à forte dose, peut provoquer des signes d'intolérance rappelant, les symptômes de l'intoxication par l'huile essentielle. C'est souvent la partie aérienne de *M'khinza* qui est utilisée contre la fièvre en cataplasmes sur le front et les tempes du patient. Celle-ci peut

également être ingérée sous forme d'une infusion ou d'une décoction. Une macération de tige feuillée, avec le vinaigre, est utilisée pour diminuer la fièvre (Kamal, 1997).

Le principal élément actif de la toxicité de cette plante est une huile essentielle qui contient de l'ascaridol, de l'aritasone, de la L-pinocarvone et des carbures terpéniques. La grande toxicité de *M'khinza* est en relation avec la dose utilisée, car la dose toxique est très proche de la dose supposée efficace.

2. Analyse des données

a. Les intoxications par plantes selon l'âge:

L'étude rétrospective sur une durée de 32 ans, du 1^{er} janvier 1980 au 31 décembre 2012, qui constitue la base de données des cas d'intoxications par les plantes médicinales déclarés au Centre AntiPoison et de Pharmacovigilance du Maroc, par courrier ou par téléphone - a montré que la majorité des victimes d'intoxications dues à des plantes sont des enfants, et plus précisément des enfants de moins de 5 ans (21 %). En effet, l'utilisation des plantes médicinales au Maroc est répandue chez toutes les tranches d'âge, avec une prédominance chez les personnes âgées de 15 à 35 ans (22 %) (Figure 33). Pour les personnes plus âgées, l'utilisation des plantes médicinales (6%) ne représente pas un grand intérêt thérapeutique. La connaissance en plantes médicinales est relativement importante.

Cela est dû à la connaissance des propriétés et des usages des espèces médicinales, qui est généralement acquise suite à une longue expérience accumulée avec l'âge et transmise d'une génération à une autre.

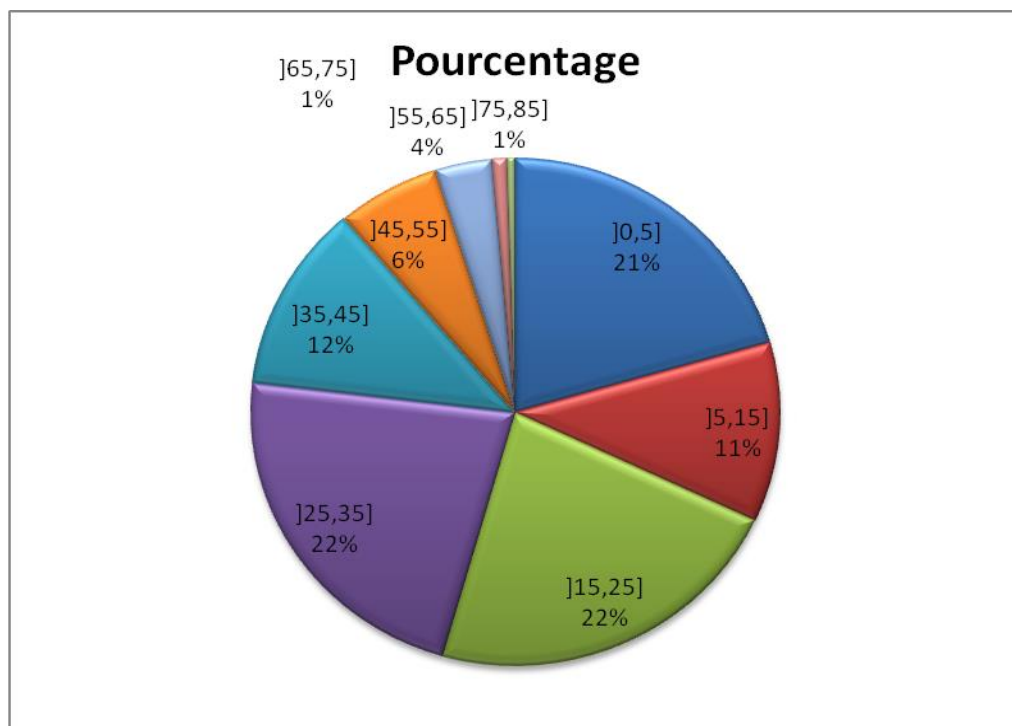


Figure 33: Répartition des utilisateurs des plantes selon la tranche d'âge.

b. Les intoxications par plantes selon le genre (sexe d'appartenance):

D'après la répartition selon le sexe, nous trouvons une prédominance féminine avec un taux de 63 % (Figure 34). Les femmes utilisent beaucoup plus les plantes médicinales que les hommes. Ceci peut être expliqué par l'utilisation des plantes par les femmes dans d'autres domaines que la thérapie et par leur responsabilité en tant que mères, ce sont elles qui donnent les premiers soins en particulier pour leurs enfants. Selon une étude, 70 à 80 % des marocains font appel aux plantes pour se faire soigner, 60 % d'entre eux sont de sexe féminin et plus de 50 % sont analphabètes et âgées de plus de 50 ans ([Encyclopédie Médico-Chirurgicale, 2002](#)).

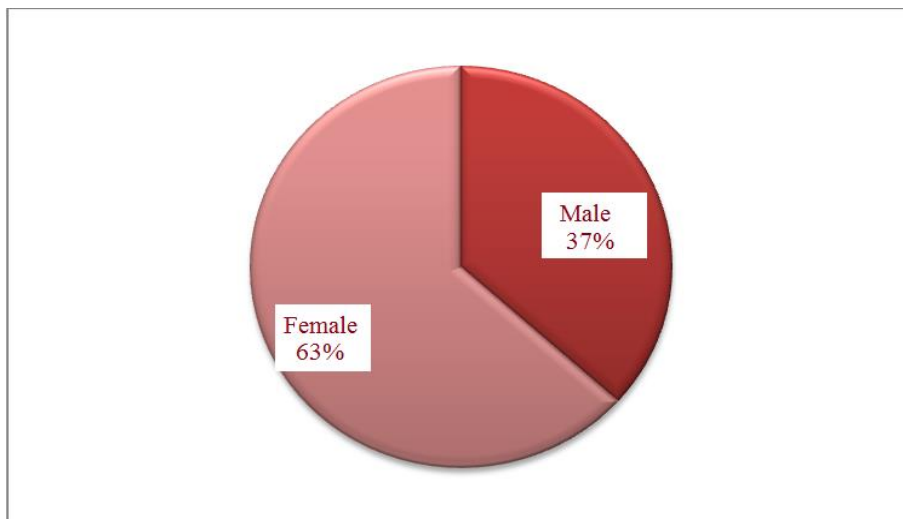


Figure 34: Répartition des utilisateurs des plantes selon le sexe.

c. Les intoxications par plantes selon les années

Les déclarations des intoxications par les plantes étaient généralement variables en fonction du temps, mais elles étaient plus importantes après l'an 2000 (Figure 35).

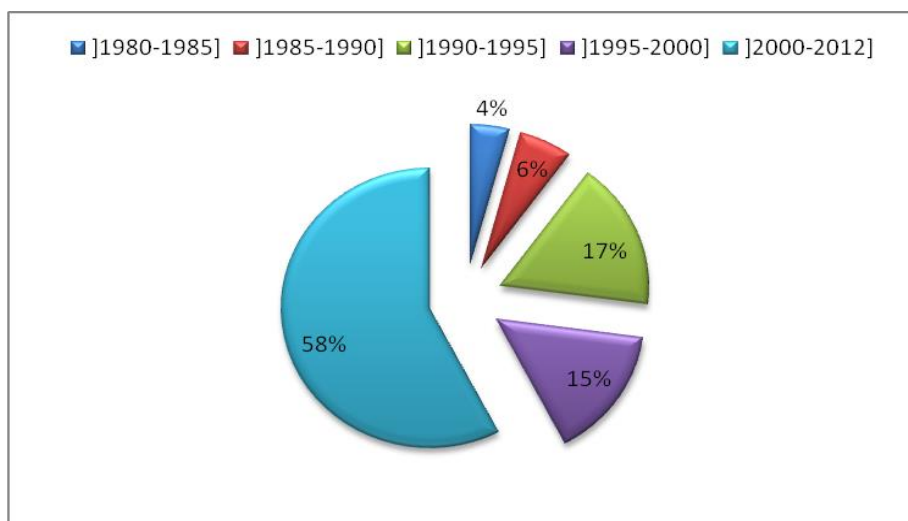


Figure 35: Répartition des utilisateurs des plantes selon les années.

d. Les intoxications par plantes selon répartition géographique

La répartition géographique des intoxications à toutes les plantes, montre une prédominance de la région du Grand Casablanca (27 %), suivie de la région de Rabat-Salé-Zemmour-Zaer (21 %) et de Marakech-Tensift-Al Haouz (11 %) (Figure 36).

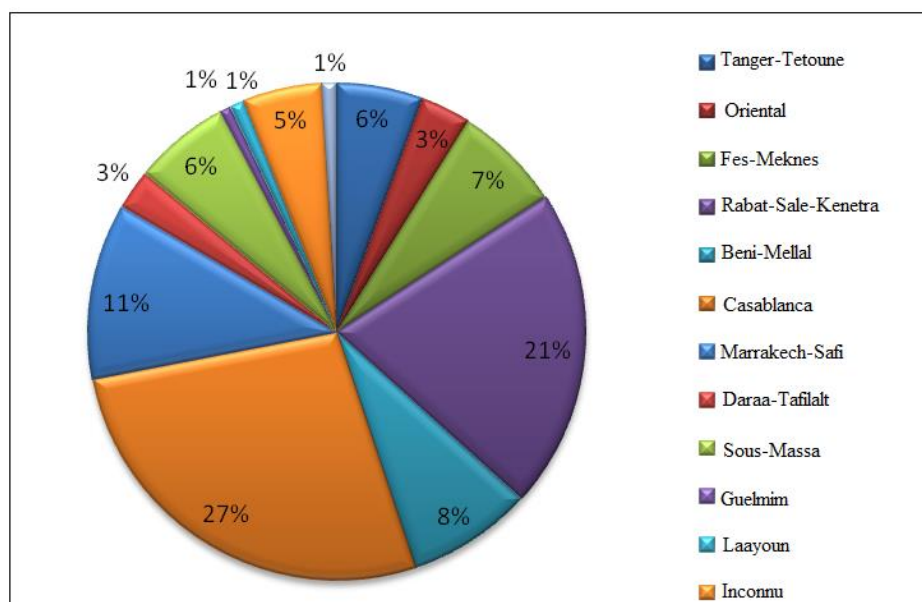


Figure 36: La répartition géographique des cas d'intoxication par les plantes.

e. Les intoxications par plantes selon la circonstance d'intoxication

Les accidents classiques étaient les plus fréquentes (53 %), suivie par les accidents volontaires (27 %) et les circonstances inconnues (19 %). Les tentatives de suicide étaient peu nombreuses et représentaient seulement 1%. Ces résultats confirment d'autres études rétrospectives réalisées à l'échelle nationale, ont montré que la principale cause d'intoxication aux plantes est l'exposition accidentelle suite à une erreur d'identification des plantes (Bousliman, Ait el cad, EL Jaoudi, Laatiris, & Bouklouze, 2012) (Figure 37).

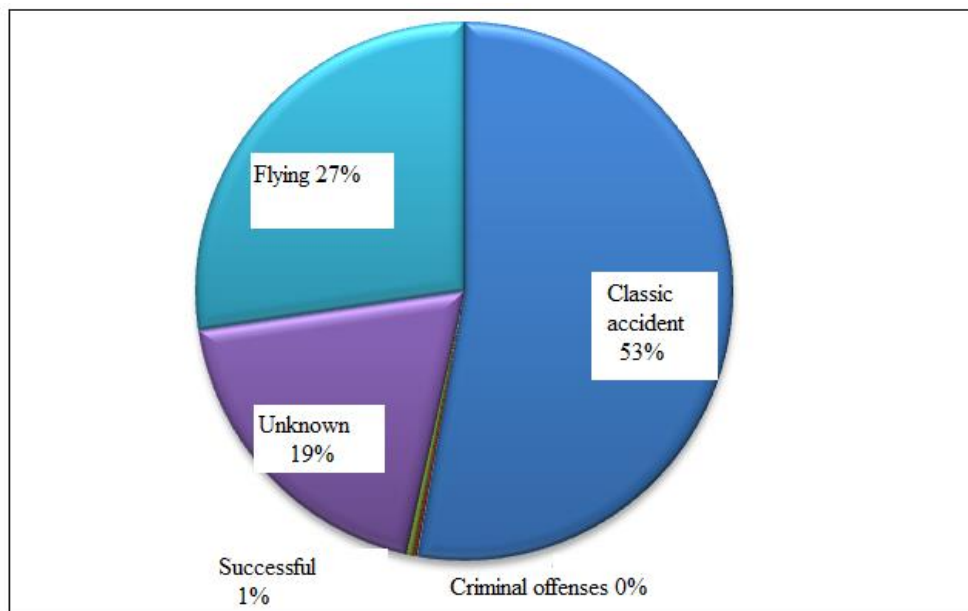


Figure 37: Répartition des utilisateurs des plantes selon les circonstances d'intoxication.

f. Les intoxications par plantes selon les symptômes

La répartition symptomatologique a montré que la majorité des cas d'intoxications étaient inconnus (30 %) suivie par les signes digestifs (12 %) et dérèglement thermique (10 %).

Une étude rétrospective réalisée sur une série de cas allant de 1983 à 2011 qui constitue la base de données des cas d'intoxications par le *Peganum harmala* dans le CPAM en 2014 a montré une dominance des symptômes neurologiques (34,4 %) suivie par les signes digestifs (31,9 %) et Cardio-vasculaires (15,8 %) (Figure 38).

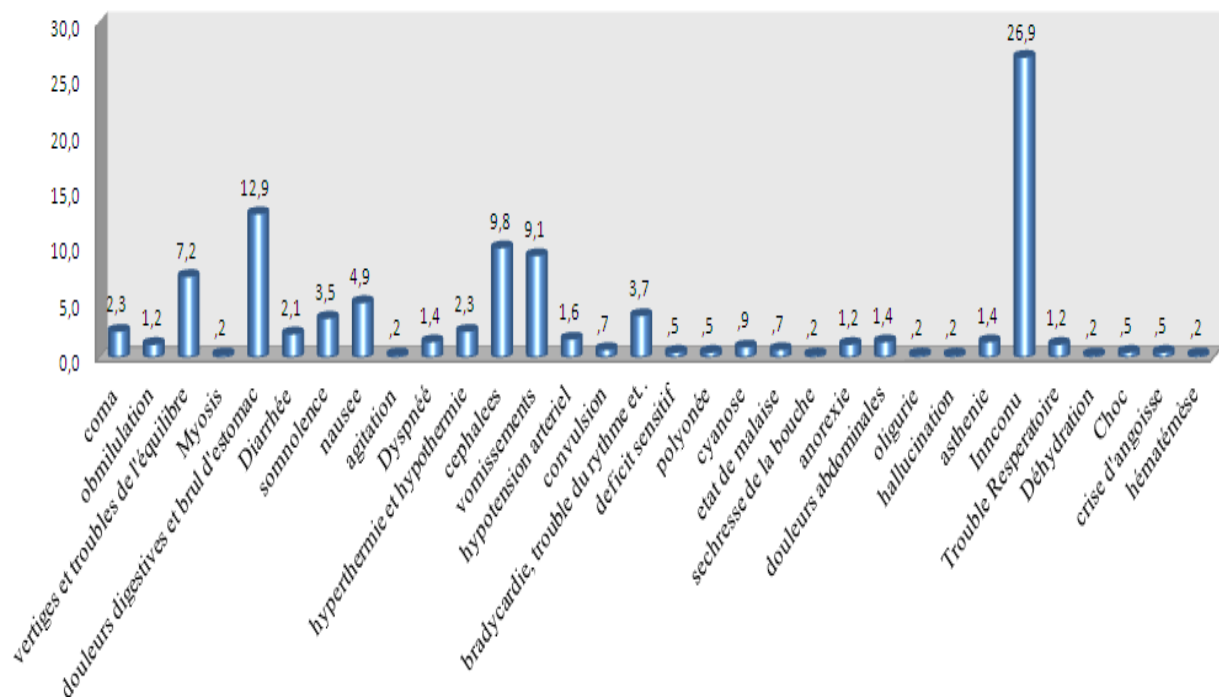


Figure 38: Répartition des utilisateurs des plantes selon les symptômes.

g. Conclusion

Les plantes sont mises en cause dans 5,1 % des intoxications déclarées au Centre AntiPoison du Maroc, elles sont souvent à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité importante. Il est donc important de stimuler la vigilance et la prise de conscience par le public et les professionnels de santé vis-à-vis les intoxications aux plantes. Cela nécessite d'être capable d'identifier et reconnaître les principales plantes toxiques, de gérer et évaluer le niveau de risque et d'assurer la prise en charge rapide et adéquate à ce problème de santé.

Dosage des polyphénols et flavonoïdes

1. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

Dans ce travail, nous avons démontré que La teneur totale en phénol a été estimée par la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu par rapport à l'acide gallique utilisée comme standard et les résultats ont été exprimés en mgéquivalent acide gallique (EAG) par g d'extrait sec en utilisant une équation obtenue à partir d'une courbe d'étalonnage. Les extraits organiques (méthanol, *n*-hexane et dichlorométhane) d'*A. longa* et de champignon ont une charge importante en phénol et leurs teneurs varient sensiblement d'un solvant d'extraction à un autre (**tableau 8**).

Tout le contenu phénolique dans les extraits examinés s'est étendu de 101.41±0.85 à 89.41±4.96 mg EAG/g d'extrait d'*A. longa* et de 115.52±1,68 à 98.24±0.55 d'extrait de champignon. La concentration la plus élevée des phénols a été mesurée dans l'extrait méthanolique. Tout le contenu phénolique dans les extraits d'*A. Longa* et les extraits de champignon dépend du type d'extrait, c'est-à-dire de la polarité du solvant utilisé dans l'extraction. Les extraits de *n*-hexane et du méthanol ont montré un teneur en flavonoïdes plus élevée que l'extrait du dichlorométhane. Les flavonoïdes, un grand groupe de composés polyphénoliques, ont démontré plusieurs activités biologiques (Bouyahya, et al., 2016). Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, mais également le stage de maturation de la plante, la récolte du fruit, la durée de stockage ainsi que le dosage des réactifs, le type du spectrophotomètre, les méthodes d'extractions ont une forte influence sur le contenu en polyphénols (Bakchiche & Gherib, 2014).

Tableau 8: Contenus en polyphénols totaux et en flavonoïdes des extraits d'*A. longa* et de *champignon*.

Extraits	Extrais <i>A, longa</i>		Extrais champignon	
	Polyphénols a	Flavonoïdes b	Polyphénols a	Flavonoïdes b
DichlOH	89.41±4.96	34.02±1.87	98.24±0.55	56.23±0.71
MtOH	101.41±0.85	54.21±0.17	115.52±1,68	68.21±0.59
n-HEXANE	76.41±8.74	29.54±0.95	66.87±8.74	35.552±0.64

a Équivalent acide gallique (mg EAG/g d'extrait)

b Équivalent quercétine (mg EQ/g d'extrait)

2. Activité antioxydante

a. Évaluation de l'activité antioxydante par le test de la DPPH

Les résultats sont présentés par densité optique est mesurée à 517 nm en fonction de la concentration des extraits (hexane, dichloromethane, méthane) pour mesurer l'activité antioxydant. Ces résultats révèlent que tous les extraits ont un effet antioxydant, l'effet antioxydant s'explique par le mécanisme d'action et le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur DPPH [DPPH+OH DPPHH+O⁻], alors que cet attachement de l'atome H sur DPPH fait diminuer par la suite la couleur violette de DPPH et donc une diminution DO en fonction de l'augmentation de la concentration, comme le montre le graphique de l'activité antioxydant ci-dessus (figure 39).

Le graphique correspond à la densité optique (DO) en fonction de la concentration [C]:

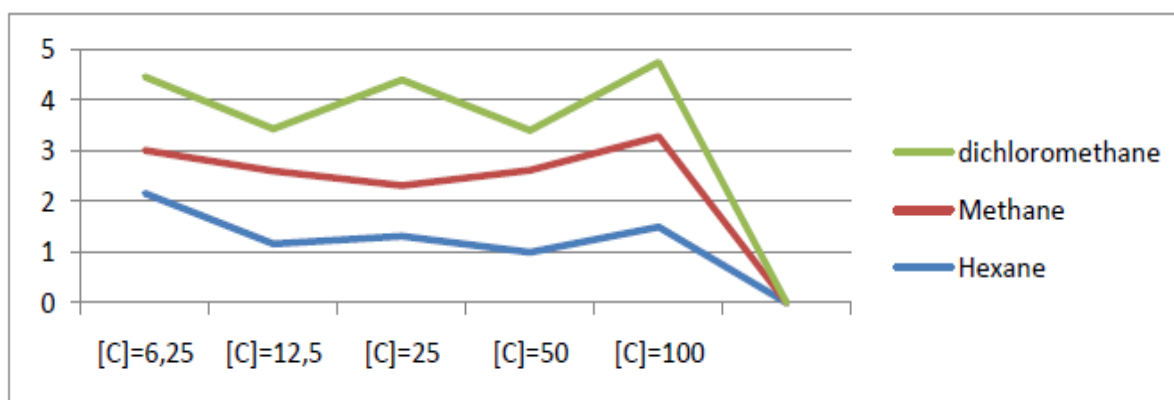


Figure 39: graphique de l'activité antioxydant.

b. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des différents extraits a été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, pour chaque concentration. Cette méthode est fondée sur la réduction d'une solution méthanolique de DPPH en présence de molécules donatrices d'hydrogène. La capacité de réduction du radical DPPH est mesurée par la diminution de l'absorbance à 517 nm par un changement de coloration de jaune au bleu.

Tous les extraits se sont montrés capables de réduire le radical DPPH. Nous notons une diminution significative de ce radical en fonction de la concentration en extrait organiques du champignon. À la concentration de 1.87mg/ml, la Dichloromethane a montré une grande capacité à inhiber le radical DPPH (78%), alors que l'activité de MeOH, est de 49%. Cette activité s'exprime significativement d'une manière dose-dépendante ($p < 0,05$), à chaque fois que nous augmentons la concentration en extrait, le pourcentage d'inhibition est augmenté significativement. Par contre pour les extraits de la plante *Aristolochia longa*. Et à une

concentration de 0.31 $\mu\text{g/ml}$, le méthanol a montré une grande capacité à inhiber le radical DPPH (32%), alors que l'activité de n-hexane et Dichloromethanea montré une faible capacité d'inhibition. Nous interprétons ce phénomène par le transfert d'électrons célibataires qui sont localisés dans l'orbitale externe du DPPH, et après avoir atteint une concentration donnée, l'antioxydant réagit complètement avec le radical, et quand nous augmentons la concentration, l'activité antioxydante reste constante puisque cela s'accompagne par la saturation des couches électroniques du radical (Figure 40, 41).

La valeur d'IC₅₀ est définie comme la concentration en extrait qui inhibe 50 % du radical DPPH. Cette valeur est calculée par la modélisation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extrait en utilisant l'équation exponentielle. Les IC₅₀ de chacun des différents extraits ont été déterminés (Tableau 9). Selon Kadri et al., une valeur plus faible de l'IC₅₀ (la concentration du substrat qui cause une inhibition de 50 % de l'activité de DPPH) indique une activité antioxydante plus élevée (Popovici C, et al.,2009). Pour la plante *A. Longa* L'extrait MeOH a donc présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée (IC₅₀ = 1.32mg/ml) suivi par l'extrait hexane avec une IC₅₀ de l'ordre de 6.58 mg/ml. Par contre, l'activité antiradicalaire la plus faible a été exprimée par l'extrait Dichlorométhane et l'extrait d'acétate d'éthyle (IC₅₀ = 8.26 mg/ml, respectivement), ce qui ne présente pas une différence significative de leur activité ($p < 0,05$). Pour les champignons, l'extrait du Dichlorométhane a donc présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée (IC₅₀ = 1.02mg/ml). Par contre l'extrait MeOH est présenté par une activité de (IC₅₀ = 1.79mg/ml).

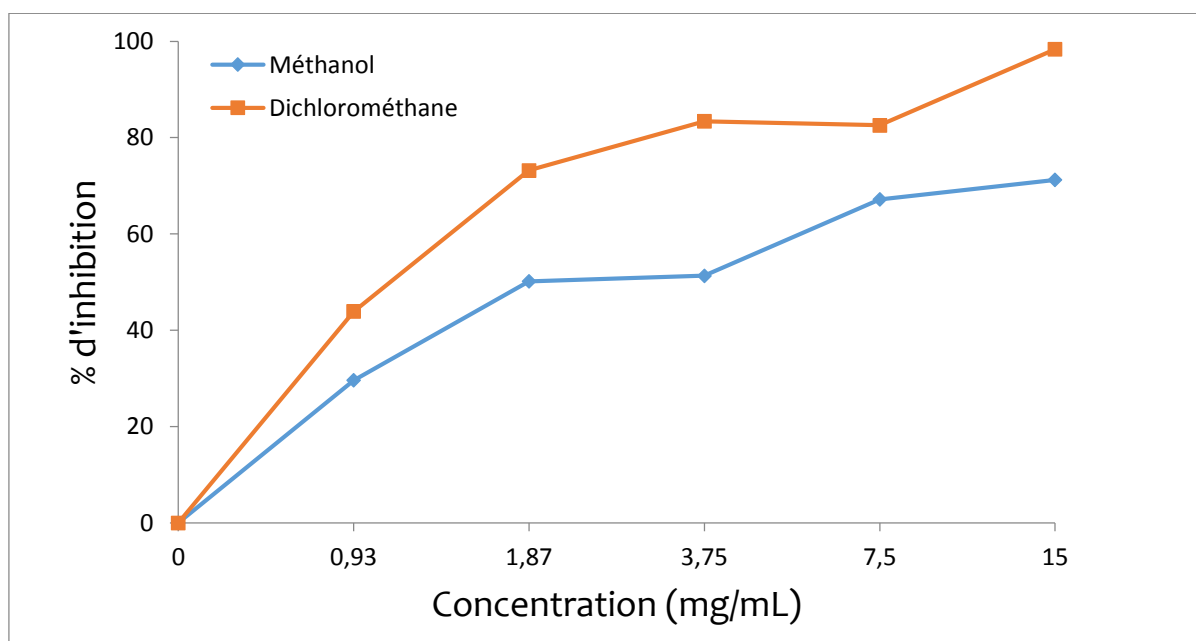


Figure 40: pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des extractions des extraits organiques du champignon.

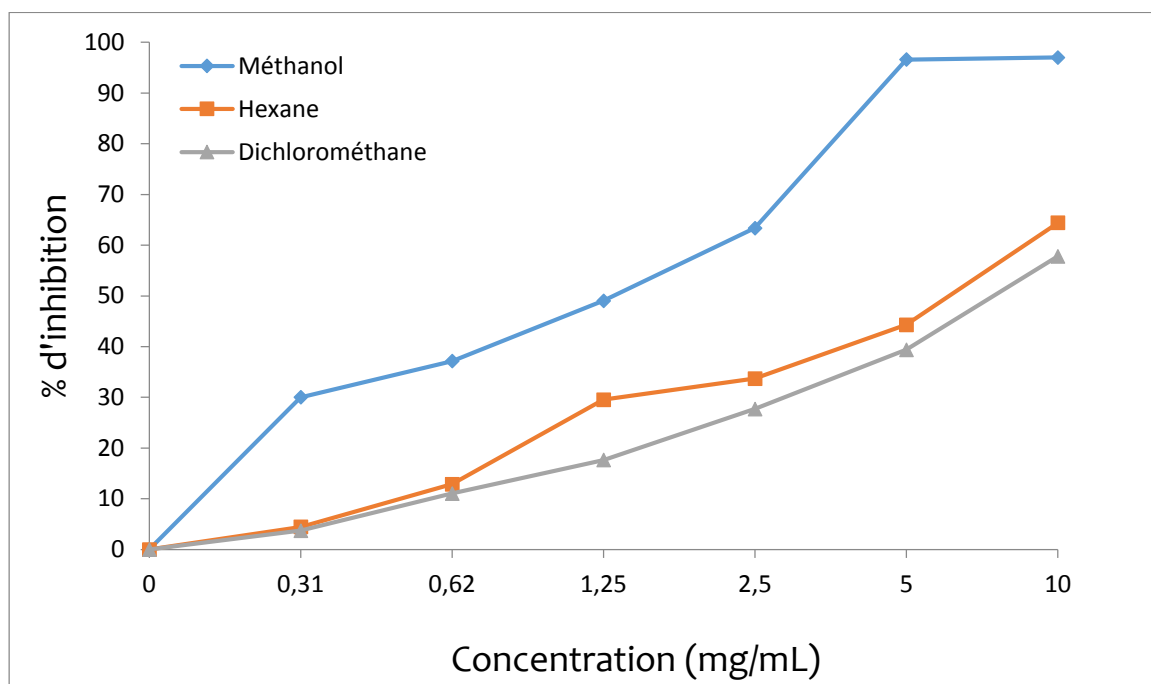


Figure 41: pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des extractions des extraits organiques d'*A. longa*.

Tableau 9: Antioxydante capacité (IC₅₀) des extraits d'*A. longa* et du *Champignon*.

	Extrait	IC ₅₀ (mg/mL)
<i>A. longa</i>	Méthanol	1.32
	Hexane	6.58
	Dichlorométhane	8.26
Champignon	Méthanol	1.79
	Dichlorométhane	1.02

D'autres études sur l'activité antioxydante par le DPPH des (*Origanum compactum* Benth) de la région Nord du Maroc, a prouvé que l'extrait de n-hexanique est le plus actif (IC₅₀ = 39,83 µg/ml) ; cependant, l'acide ascorbique (utilisé comme témoin) a montré une activité approximativement équivalente (IC₅₀ = 27,20 µg/ml), ce qui indique la présence de composés efficaces dans la composition biochimique de la plante, qui ont une capacité élevée dans la réduction du DPPH. La quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes a donné des valeurs plus élevées avec

l'extrait MeOH, où la valeur la plus élevée est estimée par mesure au spectrophotomètre : $153,27 \pm 0,68$ mg EAG/g d'extrait ; $52,72 \pm 0,72$ mg EQ/g d'extrait.

Pour les extraits de champignon d'*Aristolochia longa* aucune étude n'est déjà faite.

En effet, plusieurs travaux montrent que l'activité antioxydants des plantes est liée à la composition chimique et en particulier les flavonoïdes.

Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de la réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport Antioxydant/DPPH, type de solvants, pH) et du profil phénolique et de la méthode d'extraction en particulier. Le mécanisme principal d'action des composés phénoliques (Φ -OH) est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH en le transformant en une molécule stable DPPH (Popovici , Saykova, & Tylkowski, 2009).

c. Test chimique

Méthode de Bruneton pour réaliser les tests phytochimiques.

➤ **Épuisement du matériel végétal avec de l'eau chaude :**

45g dont 400ml (eau)

Montage dans un extracteur soxhlet pendant une nuit.

Amidon : chauffage de 5 ml de l'extrait aqueux avec une solution 10 ml NaCL saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition,-Ajout de quelques gouttes du réactif d'amidon.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée.

Saponosides: Ajout d'un peu d'eau à 2ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. En suite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en Saponosides est évaluée :

- Pas de mousse : test négatif
- Mousse moins d'un cm : test faiblement positif
- Mousse 1-2cm : test positif
- Mousse plus de 2 cm : test très faible

Tanins: 1 ml de l'extrait aqueux + 1ml d'eau+ 1 à 2 gouttes de solution de Felc3 diluée.

L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleu-vert indique la présence des tanins.

➤ **Epuisement du matériel végétal avec l'éthanol :**

35 g matériel végétal en présence de 1 60 ml d'éthanol.

Montage dans un extracteur soxhlet pendant une nuit.

Filtration du mélange et l'extrait éthanolique est soumis aux tests suivants :

Flavonoïdes : 5 ml de l'extrait éthanolique + 1 ml HCL concentré + 0.5 de tournures de magnésium.

La présence des flavonoïdes est mise en évidence, si la couleur rose ou rouge qui se développe après 3 minutes « **Flavonols** », si c'est une couleur violette « **flavonones** », si c'est une couleur orange « **Flavones** ».

Tanins : 1 ml de l'extrait ethanologique + 2 ml d'eau + 2 à 3 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée. Un test est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noir (**tanins galliques**), bleu-verte (**tanins cathechiques**)

Autres métabolites secondaires :

Anthocyanes : 2ml d'infusé aqueux +2ml de HCL 2N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu violacé par addition d'ammoniac (NH_4OH) indique la présence d'anthocyanes.

Coumarines : 1g d'échantillon de la poudre végétal est placé dans un tube à essai en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Le tube est recouvert avec un papier inhibé d'une solution de NaOH est porté dans un bain- marie pendant quelques minutes.

Puis nous ajoutons 0.5 ml de NH_4OH dilué (10%) et nous mettons 2 tâches sur un papier filtre qui sont examinées sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des tâches confirme la présence des coumarines

Stérols et tri terpènes : elle se fait sur une macération de 24 h a 5% dans l'éther. L'extrait étherique est ensuite évaporé à sec et repris avec l'anhydride acétique puis du chloroforme, déposé au fond du tube contenant l'extrait du de l'acide sulfurique,

En cas de réaction positive il se forme un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des 2 liquides, si la formation d'une phase rouge violacée (**triterpenoids**), si la phase est bleue (**stéroïdes**) (Bacquaert, 2015).

d. Conclusion

Dans cette étude, nous n'avons constaté que les extraits d'*A. longa* possèdent des activités antioxydantes et antibactériennes. Les résultats ont révélé que les extraits de méthanol avaient un antioxydant important. Les extraits méthanoliques et hexanique, renfermant généralement des teneurs élevées en polyphénols et flavonoïdes, ont également prouvé des capacités antioxydantes plus importantes que les extraits d'éthanol et d'acétate d'éthyle. Ce résultat montre l'importance des 97 solvants d'extraction dans la recherche des agents antioxydants. L'activité antioxydante des composés phénoliques tels que les polyphénols et les flavonoïdes est en grande partie due à leurs propriétés redox qui les agissent comme des agents réducteurs, des donneurs d'hydrogène, des émetteurs d'oxygène singulet et aussi des potentiels chélateurs de métaux (Leopoldini, Prieto Pitarch, Russo, & Toscano, 2004)

Étude de l'activité antibactérienne et antiproliférative

1. Activité antibactérienne

L'évaluation quantitative de l'activité antibactérienne des extraits d'*A. longa*. a été effectuée sur trois souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus* et *Rhodococcus* (GK1) (GK2) (GK3)) par la méthode de diffusion en puits. Les résultats s'expriment en termes des halos d'inhibitions autour des puits et ils montrent des diamètres d'inhibitions variables selon la bactérie traitée et le produit ainsi testé. La méthode de diffusion en puits est une technique simple et reproductible qui permet le criblage, de façon rapide, des produits naturels aux propriétés antibactériennes. Cependant, ce test est un screening préliminaire pour accéder aux autres approfondies. En effet, il a été montré, par des travaux antérieurs, que les produits naturels donnant des zones d'inhibition remarquables ne sont pas toujours, forcément, les bioactifs. Ce paradoxe est dû aux plusieurs facteurs qui peuvent influencer la diffusion des produits testés dans le milieu et leur effet contre les bactéries (Balouiri, Sadiki, & Bnsouda, 2016) (Bouhdid, Abrini, & Zhiri, 2009)

a. Zones d'inhibition

- faible activité (zone d'inhibition ≤ 12 mm) ;
- activité moyenne ($12 \text{ mm} < \text{zone d'inhibition} < 20$ mm) ;
- forte activité (zone d'inhibition ≥ 20 mm).

Cette étude a évalué l'activité antibactérienne de l'hexane d'*A. longa*, du dichlorométhane et des extraits méthanoliques des souches Gram positif et Gram négatif. Les résultats des méthodes de diffusion de l'agar ont montré que chaque extrait a un degré différent d'inhibition de la croissance (tableau 9). À 10 mg/mL, *S. aureus* a montré une sensibilité élevée à l'extrait d'hexane avec une inhibition de diamètre de 8,5 mm. L'effet de trois souches bactériennes du genre *Rhodococcus* a été testé. À 50 mg/ml, les extraits d'hexane et de dichlorométhane présentaient une activité antibactérienne plus élevée contre *Rhodococcus sp* GK1 avec un diamètre d'inhibition de 1,55 mm et 1,9 mm, respectivement. Alors que pour le Gram-, un effet d'inhibition de l'activité plus faible a été observé pour *E. coli* et *P. aeruginosa*. Des études antérieures ont indiqué qu'*A. longa* a une activité antibactérienne in vitro importante contre *Rhodococcus sp* (Aneb, et al., 2016), *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa* (Merouani, 2017). Aneb et al. ont signalé la plus forte activité d'inhibition de l'hexane et de l'extrait méthanolique contre *R. equi* (25 mm, 12 mm, respectivement). En Algérie, l'extrait méthanolique du fruit et l'extrait aqueux de la partie aérienne a montré les effets inhibiteurs les plus élevés contre *S. aureus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 22 mm et de 20 mm, respectivement. La variabilité de ces résultats a été influencée par le solvant utilisé, l'extrait utilisé, les méthodes d'extraction ainsi que les composés bioactifs. Ces derniers agissent en ciblant différentes voies de mécanismes tels

que la membrane cellulaire et le cytoplasme et aussi en modifiant la morphologie cellulaire et l'expression des gènes

Tableau 10: les zones d'inhibition des quatre extraits de la plante *A.longa*, et des extraits de champignon.

	Extrait	Concentrations	GK1	GK2	GK3	S.aureus	E.coli	Pseudo
<i>A. longa</i>	DICH	1 (10mg/mL)	0	0	0	1,05	1	0
		2 (20mg/mL)	0	0,55	0	0,95	0,8	0.23
		3 (30mg/mL)	1	0,6	0	1,2	0	0.26
		4 (40mg/mL)	0,35	0,45	0	0,85	1,1	0
		5 (50mg/mL)	1,55	0,85	0	0,55	0	0
	HEX	1 (10mg/mL)	0	1,3	1,45	8,5	0,6	0
		2 (20mg/mL)	0,8	1,45	1,15	5	1,15	0.36
		3 (30mg/mL)	0	1,1	0	6	1,1	0.5
		4 (40mg/mL)	1,65	1,35	1,8	5	0,75	0
		5 (50mg/mL)	1,9	0	1,35	7	0	0
		6 (60mg/mL)	0	1,25	0	-	-	0.98
		7 (70mg/mL)	0	0	1,45	-	-	0.55
		8 (80mg/mL)	0	0	1,15	-	-	0
	Meth	1 (10mg/mL)	1,1	1,25	1	0,15	1	0.3
		2 (20mg/mL)	1,25	1,05	0,75	1	0,8	0.23
		3 (30mg/mL)	0,3	1,25	1,2	0,8	0	0
		4 (40mg/mL)	0,6	0	0,85	0,8	1,1	0
		5 (50mg/mL)	0,75	0	0	0,65	0	0
champ	DICH	1 (10mg/mL)	0	0	0	1,5	0,95	0
		2 (20mg/mL)	0	0,55	0	1,6	0,85	0,65
		3 (30mg/mL)	1	0,6	0	1,25	0	0,95
		4 (40mg/mL)	0,35	0,45	0	0,55	0	0
		5 (50mg/mL)	1,55	0,85	0	1,65	0	0
	HEX	1 (10mg/mL)	0,45	0,6	0.7	1,55	1.4	0,5
		2 (20mg/mL)	0	1,6	0.2	1,05	1.2	0,85
		3 (30mg/mL)	1,5	0,7	1	0,75		0

		4 (40mg/mL)	0,95	0	0.36	1,2	0.2	0
		5 (50mg/mL)	0,875	0	0	1,25	1.3	0
	Meth	1 (10mg/mL)	1,9	1.2	1.2	0,15	1,1	0,75
		2 (20mg/mL)	1,75	1	0	1	1,05	0
		3 (30mg/mL)	0,75	1.4	1.4	0,8	1,2	0
		4 (40mg/mL)	0	0	0	0,8	0	0
		5 (50mg/mL)	0	0	0	0,65	0	0

b. Conclusion

Compte tenu du grand souci de la résistance aux antibiotiques, les résultats attrayants de cette étude montrent que l'utilisation de ces extraits peut représenter une source précieuse et potentielle des composés bioactifs et une alternative pour le traitement des maladies infectieuses provoquées par *E. coli*, *S. aureus*, *Rhodococcus (GK1) (GK2) (GK3)*. Cependant, d'autres études doivent être effectuées afin d'identifier et de quantifier les constituants présents dans ces extraits qui sont impliqués dans les effets synergiques. En effet, ces résultats significatifs nous encouragent à déterminer également ses activités antifongique et antitumorale potentielles. Effets de la cytotoxicité

2. Effets de la cytotoxicité

Le test de cytotoxicité à la MTT. Il s'agit d'une méthode colorimétrique largement utilisée pour évaluer les effets cytotoxiques des composés naturels et synthétiques. Dans notre travail, l'activité antiproliférative a été évaluée en utilisant ce test qui permet de mesurer la viabilité cellulaire révélée par le fonctionnement d'une enzyme appelée : déshydrogénase mitochondriale, qui transforme la molécule MTT en formazén ; produit qui absorbe les UV à 550nm. Le choix du test est lié à sa réputation élevée dans l'étude des activités cellulaires, en particulier les propriétés anticancéreuses. L'activité antiproliférative reflète la propriété d'un composé à retarder ou bloquer la prolifération des cellules en culture.

Nous avons réalisé un screening de l'activité cytotoxique in vitro, des extraits organiques des plantes : *d'Aristolochia longa* et de champignon *Fusarium tricinctum*. Les produits sont testés contre des lignées cellulaires cancéreuses : RD, PBMC et VERO.

Le problème de solubilité des produits naturels souvent cause des limites d'utilisation dans certaines applications. Pour évaluer l'activité antiproliférative, les extraits sont préparés et solubilisés dans le DMSO (avec une concentration de DMSO qui ne dépasse pas 1%), cette

concentration est recommandée par la littérature comme non toxique sur la viabilité cellulaire (Essid, Rahali , & Msaada, 2015)

L'exposition des cellules cancéreuses aux différentes concentrations des produits testés a induit l'inhibition dans la viabilité cellulaires de manière dose-dépendante. Pour comparer les résultats obtenus en terme pharmacologique, le calcul d'IC₅₀ (concentration qui inhibe 50% de la viabilité cellulaire) est fortement recommandé (Essid, Msaada, & Rahali, 2015). Par ailleurs, pour révéler le degré de sélectivité pharmacologique d'un produit anticancéreux, il est primordial de le tester sur des cellules normales. Nous avons ainsi évalué l'action antiproliférative de nos produits contre les cellules mononuclées du sang périphérique, utilisées comme cellules normales.

a. Effet antiproliférative des extraits sur la lignée cellulaire

L'effet cytotoxique in vitro des différents extraits a été évalué sur les lignées cellulaires cancéreuses embryonnaires Rhabdomyosarcoma (RD) et VERO : Les lignées de cellules cancéreuses du rein du singe (ATCC N°CCL-81) obtenues de l'Institut national de la santé de Rabat-Maroc. Le PBMC (cellules mononucléaires du sang périphérique) isolé et purifié à partir de sang humain a été utilisé comme témoin positif. Les cellules ont été cultivées dans le milieu modifié Eagle de Dulbecco (DMEM) (GIBCO) complété par 10 % de sérum fœtal inactivé par la chaleur et 1 % de mélange pénicilline-streptomycine. Les cultures ont été maintenues à 37 °C dans une atmosphère à 5 % de CO₂ et à 100 % d'humidité relative. L'effet des extraits isolés sur la viabilité cellulaire a été évalué à l'aide de l'essai 3-(4,5-diméthylthiazol -2-yl)-2, 5 diphenyltetrazolium bromide (MTT), qui mesure l'activité métabolique des mitochondries. Les essais ont été effectués sur une microplaque à 96 puits. Avant le traitement avec des extraits, 100 µL de milieu DMEM (GIBCO) contenant 3-4x10⁶ cellules/mL ont été placés dans chaque puits contenant du DMEM (GIBCO) et mis en culture à 37 °C dans de l'air humidifié/CO₂ à 5 % pendant 24 h. Après une incubation et une fixation de 24 heures, les cellules ont été traitées avec des extraits bruts. Exactement à partir de la solution mère (80 mg/mL), chaque échantillon extrait a été appliqué dans une série de 6 dilutions (concentrations finales allant de 12,5 µg/mL à 400 µg/mL) dans du sulfoxyde de diméthyle (DMSO 1 %). Une solution d'essai (100 µL) a été ajoutée en double à des concentrations décroissantes. La microplaque a ensuite été incubée pendant 48 h à 37 °C dans un état de l'air de 5 % de CO₂. Après l'ajout d'une solution de MTT de 20 µL (5 mg/mL) (SIGMA) dans les puits contenant des cellules, les cellules ont été incubées pendant 4 à 5 heures à 37 °C dans 5 % de CO₂. Les sels de tétrazolium sont clivés en colorant formazan par une enzyme cellulaire (uniquement dans les cellules viables). Une solution de solubilisation (isopropanol/acide chlorhydrique) est ajoutée pour dissoudre le formazan violet insoluble dans une

solution de coloration. L'absorbance a été mesurée à 545 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques (Statfax 2100) (Figure 42- 47).

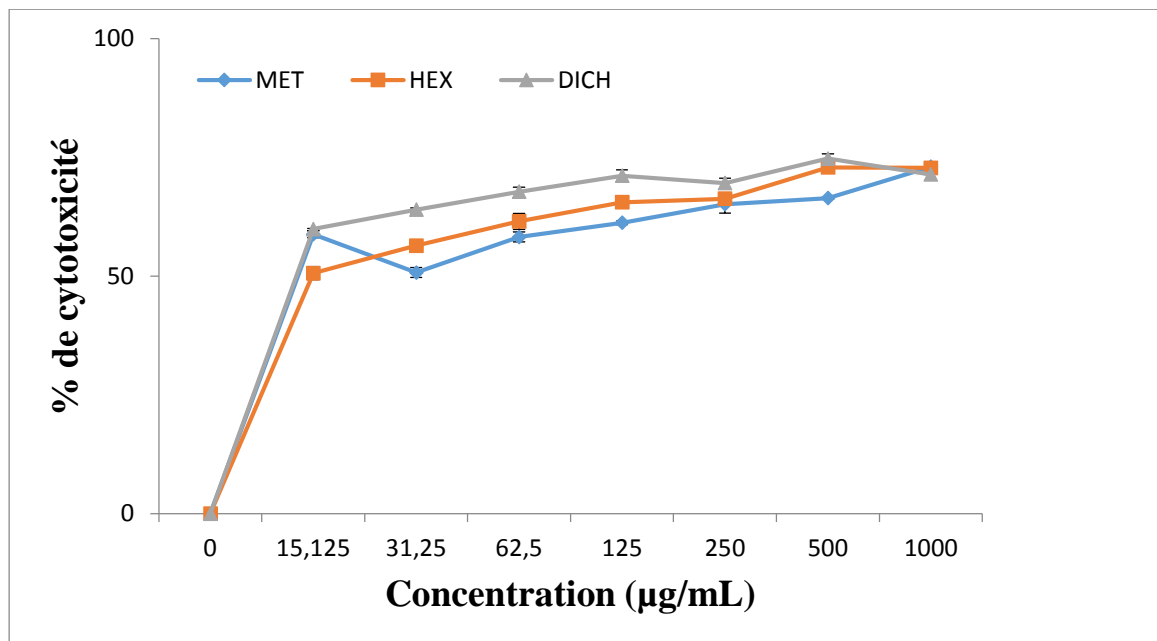


Figure 42: Cytotoxicité des extraits *d'A. longa* contre les cellules RD.

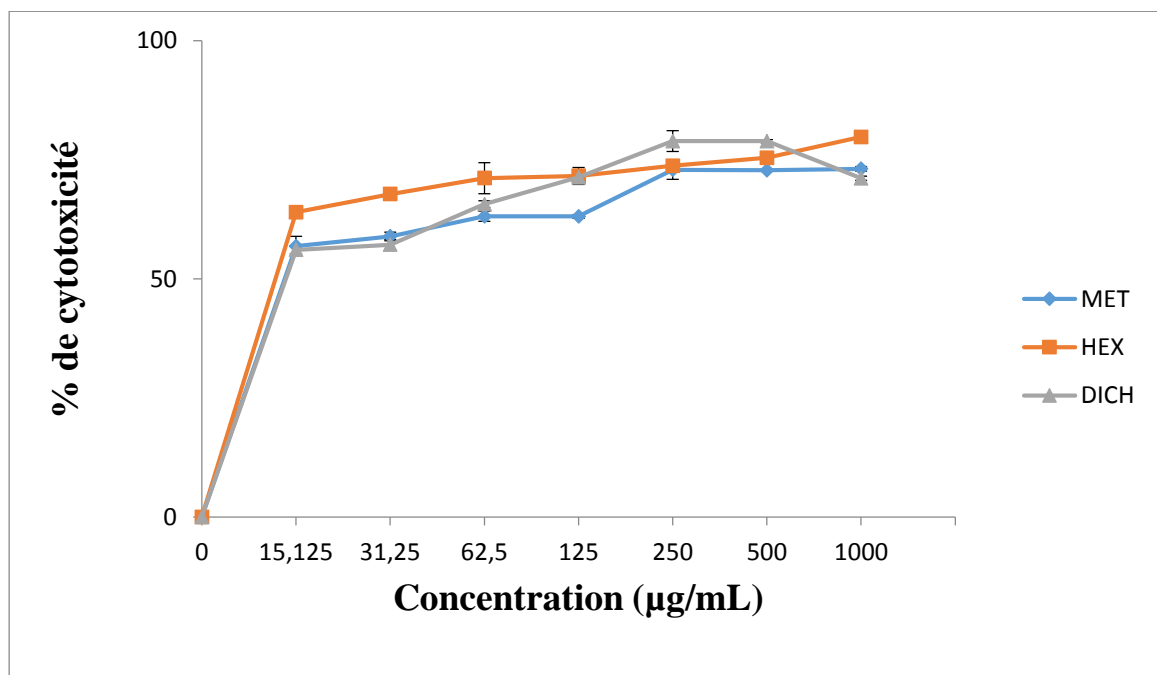


Figure 43: Cytotoxicité des extraits *d'A. longa* contre les cellules VERO.

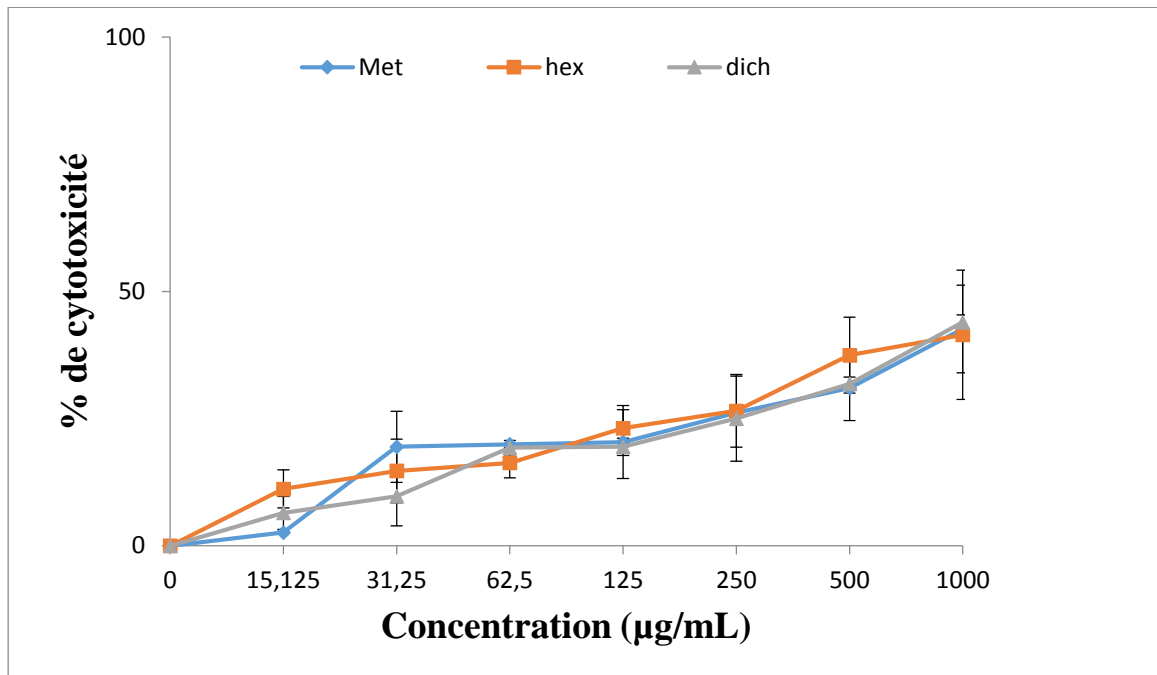


Figure 44: Cytotoxicité des extraits d'*A. longa* contre les cellules PBMC.

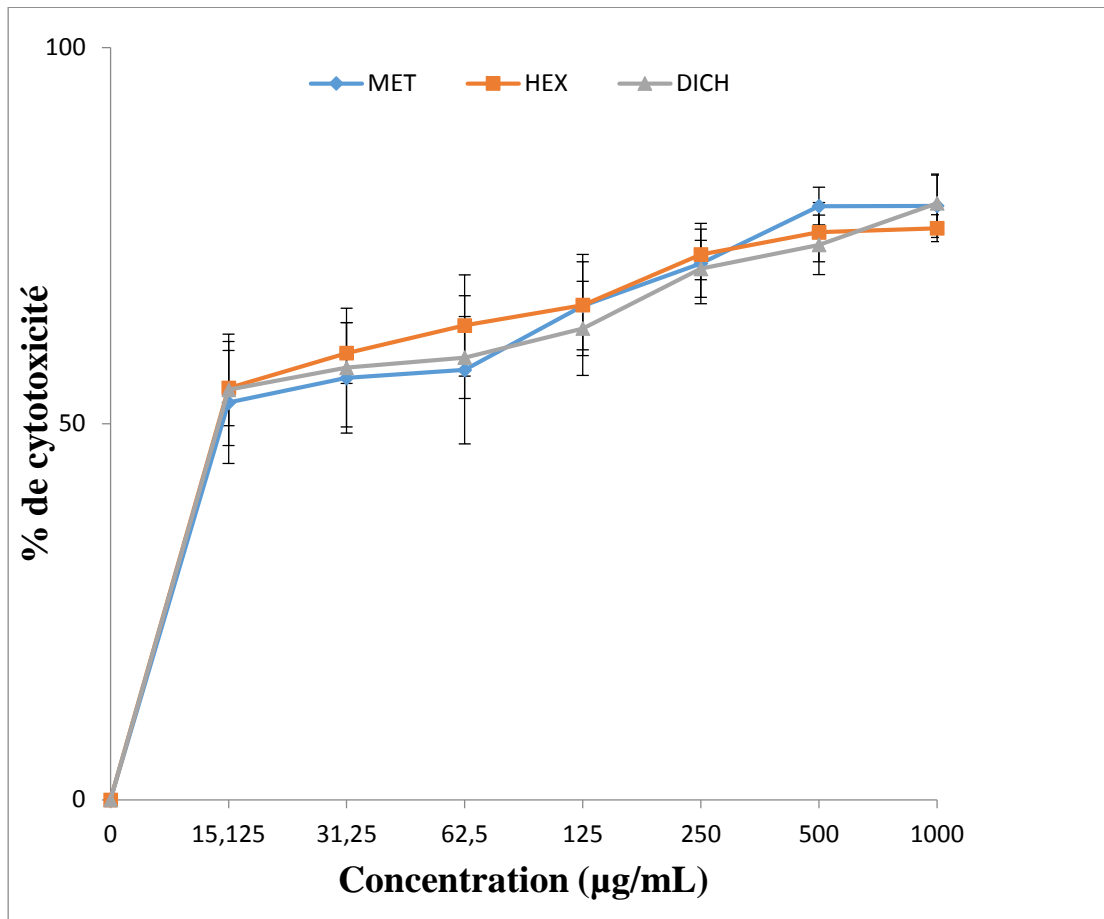


Figure 45: Cytotoxicité des extraits du champignon *Fusarium tricinatum* contre les cellules de VERO.

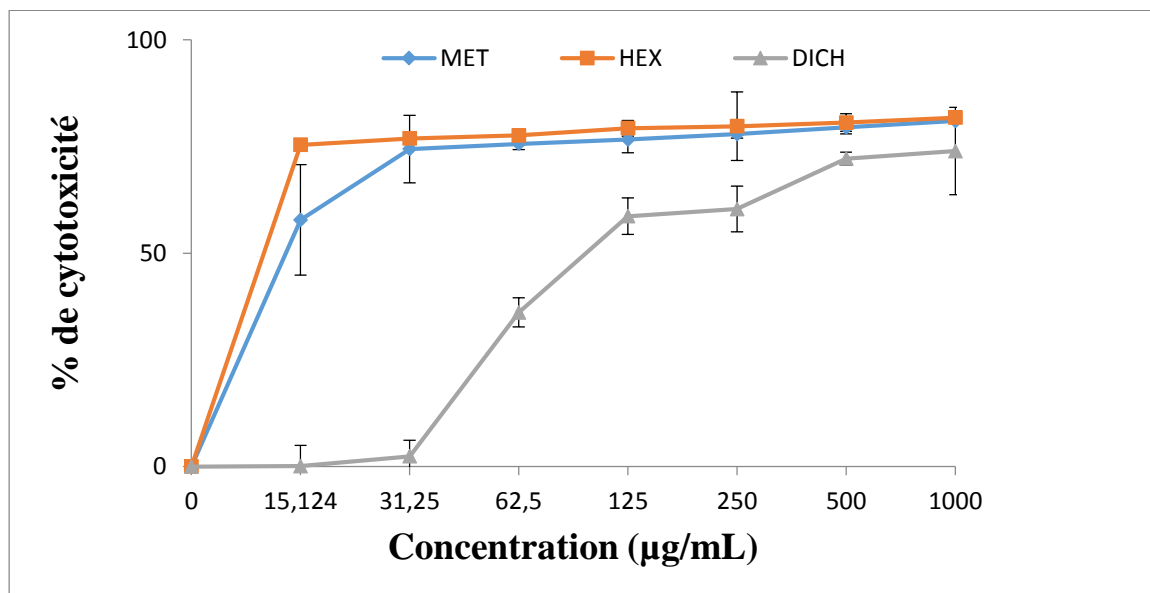


Figure 46: Cytotoxicité des extraits du champignon *Fusarium tricinatum* contre les cellules RD.

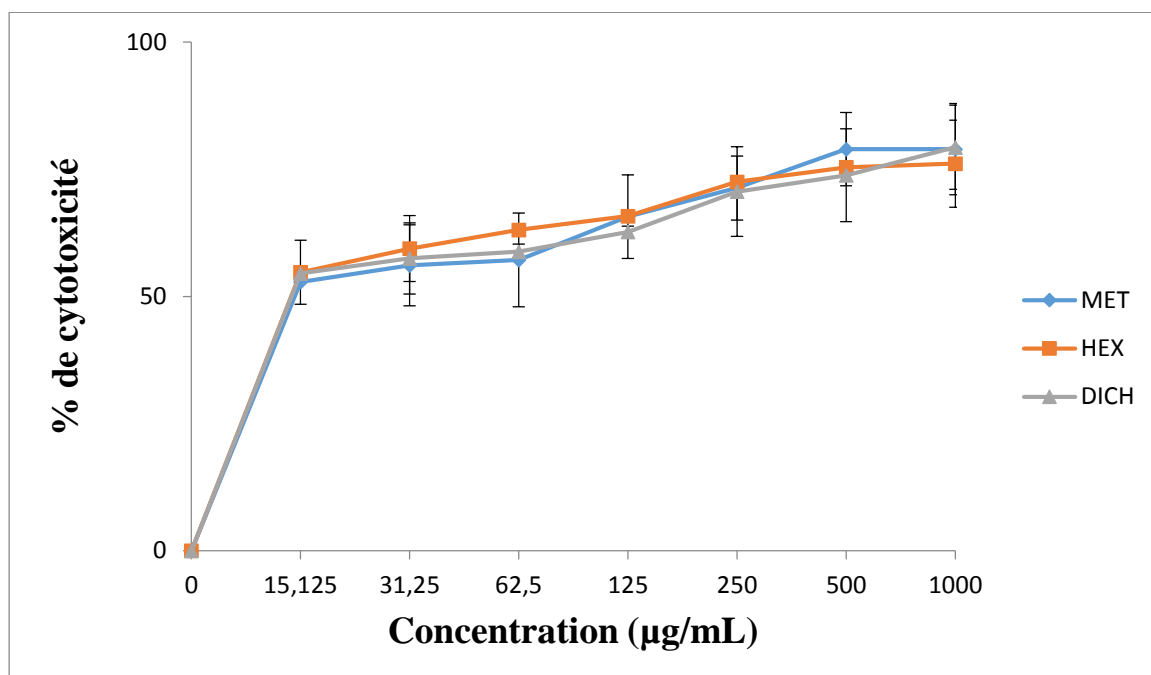


Figure 47: Cytotoxicité des extraits du champignon contre les cellules PBMC.

Tableau 11 : Valeurs de concentration d'inhibition (CI50 en µg/ml) d' *A. longa* vers RD, VERO et PBMC déterminées par le test MTT.

		<i>A. longa</i>		
		Hexane	Dichloromethane	Methanol
IC ₅₀	RD	15.19 ± 66.32	125,43±17.17	62,05 ±61,24
	PBMC	62,57 ± 16,295	14.16±6.48	31.25±09.765
	VERO	15.125±64.01	31.25±57.17	125.3±63,13

Le potentiel cytotoxique des extraits organiques d'*A. longa* et du champignon *Fusarium tricinctum* ont été réalisés sur deux lignées de cellules tumorales : RD et VERO. Ces derniers ont été traités avec différentes concentrations d'extraits allant de 15,12 µg/mL à 1000 µg/mL. L'analyse par le test MTT indique que les extraits ont révélé différentes activités cytotoxiques vers deux lignées cellulaires cancéreuses étudiées (RD et VERO). Les résultats ont été comparés au contrôle (PBMC) pour comparer les effets antiprolifératifs des extraits. Les résultats obtenus sont énumérés au tableau 10. En général, une diminution proportionnelle à la dose de la survie des deux lignées cellulaires cancéreuses est illustrée à la figure 41 et à la figure 42 et pour le champignon (figure 44, figure 45). Parmi ces extraits de plantes testés, Les extraits d'hexane présentaient des activités antiprolifératives efficaces et sélectives contre les lignées cellulaires VERO et RD ayant la même CI50 (CI50 = 15,12 µg/mL).

En même temps, il n'y a aucun effet significatif des extraits de dichlorométhane et de méthanol. L'activité cytotoxique des extraits d'hexane a montré une faible cytotoxicité contre les cellules normales (PBMC) avec des valeurs de CI50 de 62,57 16,295 µg/mL (tableau 10 et figure 43). Dans notre étude, la présence de polyphénols et de flavonoïdes dans des extraits d'hexane (76,41 8,74 mg de GAE/g et 29,54 0,95 mg de QE/g, respectivement) peut expliquer l'effet cytotoxique sur les lignées de cellules tumorales RD et VERO. Plusieurs recherches ont rapporté l'activité d'extraits d'*A. longa* contre diverses lignées cellulaires cancéreuses (Aneb, et al., 2016). Benarba et al. ont signalé une CI50 = 15,63 µg/mL pour l'extrait aqueux d'*A. longa* contre les cellules BL41 du lymphome de Burkitt (Benarba & B, 2016). Une étude précédente a signalé l'effet des extraits de tubercules de cette plante sur la même lignée cellulaire utilisée dans cette étude. Dans notre laboratoire, l'effet cytotoxique des extraits de tubercules d'*A. longa* a été étudié par Aneb et al (Aneb et al, 2016). Ils ont analysé l'effet cytotoxique de l'hexane et de l'extrait de dichlorométhane, qui présentaient une capacité cytotoxique CI50 = 30 µg/mL et CI50 = 15 µg/mL, respectivement, sur les lignées cellulaires RD (Aneb et al, 2016). Le mécanisme d'action des extraits par lequel les composés agissent dans leur effet cytotoxique n'est pas entièrement compris. Toutefois, les auteurs ont suggéré que ces composés agissent en pensant à la perturbation membranaire, aux voies d'apoptose et à l'inactivation de la télomérase.

b. Conclusion

Les résultats obtenus dans cette étude préliminaire indiquent que l'extrait hexanique et l'extrait dichlorométhanique des deux plantes *A. longa* et des champignons se sont avérés induire des activités inhibitrices significatives et dépendantes de la dose contre la lignée de cellules cancéreuses humaines et animales (RD, VERO). Il reste intéressant d'évaluer l'activité cytotoxique de plantes sélectionnées in vitro sur d'autres lignées de cellules cancéreuses.

Discussion générale

La phytothérapie, étymologiquement le traitement par les plantes, est une méthode thérapeutique qui utilise l'action des plantes médicinales et nous permet de réaliser un voyage à travers le temps. Des époques les plus lointaines, qui ont vu naître les principes fondamentaux de la médecine et de la science, aux perspectives nouvelles de leur utilisation. La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme.

Dans notre travail, nous avons choisi d'étudier la plante *A. long*. L'utilisation de toutes les plantes contenant de l'acide Aristolochique, quelle que soit l'espèce d'aristoloches est interdite dans beaucoup de pays depuis quelques années. Ce principal élément actif est terrifiant car il est considéré comme une substance fortement toxique. Aucune dose sans effet toxique de ce dernier n'a pu être déterminée (Pharmacopée marocaine traditionnelle). La famille des Acides Aristolochiques et Aristolactames comprend des molécules mutagènes et cancérigènes pour l'estomac, la vessie, les reins, les testicules ([Lejeunia revue de botanique](#)).

Aristolochialonga (de la famille des Aristolochiaceae) est largement utilisée pour le traitement du cancer en médecine traditionnelle au Maroc, Elle doit sa toxicité à l'acide Aristolochique, qui est très concentré au niveau de la racine et que l'Organisation mondiale de la santé la considère comme carcinogène, c'est-à-dire capable de provoquer un cancer. Les racines, pulvérisées, associées au henné sont utilisées pour traiter les maladies de la peau. Elles sont utilisées également, seules ou en décoction, contre l'asthme ([Kahouadji, 1995](#)). L'*Aristolochie* est une plante abortive, employée autrefois lors des accouchements. La racine de *Bereztem* est fréquemment utilisée pour traiter l'une des pathologies les plus dangereuses, à savoir le cancer avec un pourcentage de 24,9%, ainsi que les maladies de palpitations de l'aorte (Boumezwi), de la constipation, des affections intestinales, des maladies cutanées, des blessures.

La fréquence d'utilisation de l'*Aristolochie* dans la zone d'étude de Rabat, Salé et Témara est très liée au profil des personnes enquêtées. Ainsi, les jeunes, comparés aux personnes âgées, ne connaissent généralement pas l'utilité de cette espèce. Les femmes et les hommes ont un savoir médicinal partagé, avec un léger avantage allant aux femmes. L'étude ethnobotanique réalisée dans la région, nous a permis de révéler une multitude de résultats sur l'utilisation de cette plante médicinale, sur ses parties utilisées ainsi que sur les maladies traitées. En effet, ces résultats ont été confirmés par des études similaires effectuées dans d'autres régions du Maroc à titre d'exemple : Etude ethnobotanique ; plantes médicinales commercialisées à la province de

Laâyoune ; identification et utilisation. La population étudiée utilise cette plante médicinale avec des doses non précises avec un pourcentage de 94.8% (El yahyaoui el idrissi, et al., 2018)

L'analyse descriptive globale a porté essentiellement sur la répartition selon les années, le sexe, la tranche d'âge, la répartition géographique, les circonstances et les effets indésirables, les résultats ont montré que les plantes sont mises en cause dans 5,1 % des intoxications déclarées au Centre AntiPoison du Maroc, elles sont souvent à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité importante. Il est donc important de stimuler la vigilance et la prise de conscience, par le public et les professionnels de santé, vis-à-vis des intoxications aux plantes. Cela nécessite d'être capable d'identifier et de reconnaître les principales plantes toxiques, de gérer et d'évaluer le niveau de risque et d'assurer la prise en charge rapide et adéquate à ce problème de santé.

Réaliser une enquête ethnobotanique dans les villes Rabat, salé et Témara auprès des herboristes, afin de préciser la dose exacte et la proportion des prescriptions de la plante Bereztem qui est supposée être toxique, et de recueillir l'ensemble des informations sur les effets thérapeutiques chez les consommateurs de cette plante médicinale. L'enquête ethnobotanique sur le terrain a été menée pendant deux campagnes, en 2014 et 2015 dans les villes Rabat, Salé et Témara. A l'aide de 176 fiches questionnaires, nous avons pu recueillir des informations concernant le profil de la personne interrogée (âge, sexe, niveau d'études, situation familiale et habitat) et les pratiques thérapeutiques, utilisées par la population marocaine dans le traitement de certaines maladies, par la plante Bereztem (partie utilisée et mode de préparation). Nous nous sommes basés sur une fiche d'enquête, que nous avons remplie avec des réponses parfois difficilement divulguées par notre interlocuteur. La fréquence d'utilisation de l'aristoloche dans la zone d'étude de Rabat, Salé et Témara est très liée au profil des personnes enquêtées. Les femmes et les hommes ont un savoir médicinal partagé, avec un léger avantage allant aux femmes. L'étude ethnobotanique réalisée dans la région, nous a permis de révéler une multitude de résultats sur l'utilisation de cette plante médicinale, ses parties utilisées ainsi que sur les maladies traitées. La population étudiée utilise cette plante médicinale avec des doses non précises avec un pourcentage de 94.8.

Dans un contexte de valorisation des produits extraits, nous avons réalisé un criblage pharmacologique sur trois activités biologiques, à savoir l'étude de l'activité antioxydante, antiproliférative et antibactérienne. Nous avons montré des effets antioxydants importants pour la plante *A. longa*. et du champignon *Fusarium tricinctum*. Cette plante est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement de certaines maladies, notamment le cancer. Les propriétés antioxydantes de cette plante expliquent, néanmoins en partie, la façon dont des drogues

d'*A. longa* agissent contre le cancer et d'autres maladies. En effet, plusieurs études ont montré la corrélation quasi-étroite entre le cancer et le stress oxydant. L'implication du stress oxydant dans la cancérisation est principalement liée aux dommages des macromolécules, y compris l'ADN, prédisposant ainsi à la transformation tumorale.

Le cancer occupe, actuellement, le centre d'intérêt pour la découverte de médicaments ciblés. En effet, la compréhension mécanistique des voies de cancérisation, grâce au progrès décisifs de la génomique, l'épigénomique, la transcriptomique et la protéomique, a orienté les recherches, de manière extrêmement remarquable, vers les pistes de réflexion dans la thérapeutique ciblée. L'idée vient dans le contexte ; si le cancer est une maladie de désordre, le déchiffrement moléculaire de celle-ci, peut ouvrir des cibles précises pour rétablir ainsi l'ordre. En effet, certaines études ont commencé à décortiquer des molécules d'origines diverses, allant du milieu naturel à la biotechnologie, en passant à la synthèse et/ou l'hémisynthèse.

Les résultats obtenus, dans cette étude préliminaire, indiquent qu'il a été démontré que l'extrait hexanique et l'extrait dichlorométhanique de la plante *A. longa* induisent des activités inhibitrices significatives et dose-dépendantes de la lignée cellulaire cancéreuse humaine et animale (RD, PBMC, VERO). Il reste intéressant d'évaluer l'activité cytotoxique, de plantes sélectionnées, *in vitro*, sur d'autres lignées de cellules cancéreuses. En outre, ces extraits se sont révélés être plus actifs contre les souches bactériennes pathogènes choisies (*R. equi*, *Rhodococcus sp GK1*, *Rhodococcus sp GK3*) Cette étude fournit une base importante pour la poursuite des recherches sur l'isolement, la caractérisation et le mécanisme d'action des composés biologiques, dans le traitement des maladies. Ainsi, ces plantes pourraient servir de source pour de nouvelles structures dans la conception de médicaments et pourraient être utilisées avec des médicaments connus dans le développement d'agents pharmacologiques, pour lutter contre le cancer et les maladies infectieuses. Enfin, le Maroc possède diverses espèces de plantes pouvant constituer des sources importantes de composés pour traiter différentes maladies.

Parmi les perspectives concernant les résultats des effets antioxydants, La combinaison entre les effets antioxydants et anticancéreux pourrait être envisagée en étudiant l'effet pro-oxydant et antioxydant sur des lignées cellulaires tumorales *in vitro*. Il serait encore primordial d'étudier l'efficacité de cette plante et du champignon endophytique *in vivo*.

Les résultats de criblage pharmacologique, obtenus dans cette étude et plus particulièrement dans le domaine antimicrobien, montre à quel point les approches suivies représentent une grande fiabilité. Ainsi, l'originalité de ces recherches réside dans le fait que les extraits de la plante *A. longa* et du champignon endophytique *Fusarium trincinctum*, ont une activité anticancéreuse très

marquée. Cependant, cette plante est endémique du Maroc et en voie de disparition, à cause de la collecte intensive et irrationnelle par des fournisseurs nationaux et internationaux. Cette situation, a amené de nombreux laboratoires à penser sur les voies de multiplication alternatives, en utilisant des outils de biotechnologie végétale, pour garder cette espèce rare.

Conclusion générale

L'utilisation de toutes les plantes contenant de l'acide Aristolochique a été interdite dans de nombreux pays ces dernières années. Quelles que soient les espèces d'aristoloches, elles contiennent toutes cet acide. Cet ingrédient actif est terrifiant parce qu'il est considéré comme une substance hautement toxique. Aucune dose sans effet toxique de cette dernière n'a pu être déterminée (Pharmacopée marocaine traditionnelle). La famille des acides aristolochiques et aristolactiques comprend des molécules mutagènes et cancérogènes pour l'estomac, la vessie, les reins et les testicules. Au Maroc, *A. longa* ou Bereztem est une plante médicinale utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle. Il doit sa toxicité à l'acide aristolochique qui est très concentré au niveau des racines et que l'Organisation mondiale de la santé considère comme cancérogène.

La racine de Bereztem est fréquemment utilisée pour traiter l'une des pathologies les plus dangereuses, à savoir le cancer avec un pourcentage de 24,9%, ainsi que les maladies de "Boumezwi" (palpitations de l'aorte), la constipation, les troubles intestinaux, les maladies de la peau et les blessures. Cette plante est néanmoins peu utilisée en phytothérapie moderne car elle présente des risques de toxicité et d'effets secondaires avec des pourcentages égaux (17%). La fréquence d'utilisation des plantes médicinales dans la zone d'étude de Rabat, Sale et Témara est étroitement liée au profil des personnes interrogées. Ainsi, les jeunes, par rapport aux personnes âgées, ne connaissent généralement pas l'utilité de cette espèce. Les femmes et les hommes ont des connaissances médicales partagées, avec un léger avantage pour les femmes. L'étude ethnobotanique menée dans la région, a révélé une multitude de résultats sur l'utilisation de cette plante médicinale, sur ses parties utilisées ainsi que sur les maladies traitées. La population étudiée utilise cette plante médicinale à des doses non spécifiées avec un pourcentage de 94,8. Enfin, bien qu'elles soient riches en composés bénéfiques tels que les acides gras polyinsaturés avec les acides linoléiques et linoléniques essentiels, l'utilisation des espèces d'*Aristolochia* devrait être abandonnée car elles contiennent des acides aristolochiques néphrotoxiques.

La présente étude a montré que l'extrait méthanolique, riche en polyphénols et en flavonoïdes, avait une activité antioxydante remarquable. Cependant, l'extrait d'hexane a présenté l'activité antibactérienne la plus élevée contre *R. equi* et *S. aureus*, et a présenté l'activité anticancéreuse la plus élevée contre les lignées cellulaires cancéreuses VERO. Ces résultats justifient l'utilisation de cette plante, par la population marocaine, comme plante populaire bénéfique dans le traitement du cancer, et comme source de composés naturels dans l'industrie pharmaceutique. Par conséquent, d'autres recherches devraient être menées pour séparer ces

composés phénols, élucider leur structure et identifier et isoler les composés bioactifs. Ces recherches sont nécessaires pour bien comprendre le mécanisme antibactérien et antitumoral de l'*A. longa*.

Bibliographie

- Afa, D. (2006). *Contribution à une étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la ville de Salé (Maroc)*. Diplôme d'Etudes Supérieures Approfondies. Université Mohammed 5.
- Aganga, A., & Mosase, K. (2001). *Tannin content, nutritive value and dry matter digestibility of Lonchocarpus capassa, Zizyphus mucronata, Sclerocarya birrea, Kirkia acuminata and Rhus lancea seeds*. Anim. Feed Sci. Technol.
- Al Askari, G., Kahouadji, A., & Khedid, K. (2013). *In vitro antimicrobial activity of aqueous and ethanolic extracts of leaves of Ficus carica collected from five different regions of Morocco* (Vol. 4). J. Mater. Environ.
- Ali, B., & Blunden, G. (2003). *Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa*. Phytother.
- Ames, B., Kammen, H., & Yamasaki, E. (1975). *Hair dyes are mutagenic: identification of a variety of mutagenic ingredients*. Proc nation Acad SciUSA.
- Amorati, R., Concetto Foti, M., & Valgimigli, L. (2013). *Antioxidant Activity of Essential Oils* (Vol. 61(46)). Journal of Agricultural and Food Chemistry.
- Amorati, R., Foti, M., & Valgimigli, L. (2013). *Antioxidant Activity of Essential Oils* (Vol. 16). Journal of Agricultural and Food Chemistry.
- Aneb, M., Talbaoui, A., Bouyahya, A., EL Boury, H., Amzazi, S., Benjouad, A., . . . Bakri, Y. (2016). *In vitro Cytotoxic Effects and Antibacterial Activity of Moroccan Medicinal Plants Aristolochia longa and Lavandula multifida* (Vol. 16 (2)). European Journal of Medicinal Plants.
- Aquaron, M. (2005). *Relation entre les hommes et les plantes médicinales. Les auseries en Montagne, Sabenca de la Valéia, Barcelonnette*. Site Internet: <http://www.hominides.com/ht>.
- Arnold, A. (2007). *Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers* (Vol. 21(2-3)). Fungal Biol Rev.
- B.H, A., & Blunden, G. (2003). *Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa*. Phytother.
- Bacquaert, P. (2015). *PAGE de dosage du sportif*.
- Bakchiche, B., & Gherib, A. (2014). *Activités antioxydantes des polyphenols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle d'Algérie* (Vol. Vol. 9). International Journal of Innovation and Applied Studies.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Idaomar, M., & Averbeck, D. (2008). *Biological effects of essential oils. A review* (Vol. 46). Food and Chemical Toxicology.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Bnsouda, S. (2016). *Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity* (Vol. 6). A review. J Pharma Anal.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Bnsouda, S. (2016). *Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity. A review*. J Pharma Anal.
- Balouiri, Sadiki, M., & Bnsouda, S. (s.d.). *Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity*.
- Barbosa, R. (2008). *Fontenele-neto jd, soto-blanco b. Toxicity in goats caused by oleander (Nerium oleander)*. Research in Veterinary Science.

- Belayachi, L., Aceves-Luquero, C., & Merghoub, N. (2013). *Screening of North African Medicinal Plant Extracts for Cytotoxic Activity Against Tumor Cell Lines*. *Europ J Med Plan*.
- Bellakhdar, J. (1987). *Médecine traditionnelle et toxicologie ouest-saharienne, contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine - Edition technique Nord-africaine*.
- Bellakhdar, J. (1997). *La pharmacopée marocaine, traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*. Casablanca, Maroc: Saint –Etienne, Edit. Ibis Press.
- Bellakhdar, J. (2006). *Plantes médicinales au Maghreb et soins de base. Précis de phytothérapie moderne*. Casablanca, Maroc: Editions le Fennec.
- Bellakhder. (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle*.
- Ben M'rad, S., Merai, S., Grairi, H., Yaalaoui, S., Tritar, F., & Djenayah, F. (2004). *Allergie immédiate au henné pur*. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*.
- Benarba, & B. (2016). *Medicinal plants used by traditional healers from South-West Algeria: An ethnobotanical study* (Vol. 5(4)). *J Intercult Ethnopharmacol*.
- Benarba, B., Ambroise, G., Aoues, A., Meddah, B., & Vazquez, A. (2012). *Aristolochia longa aqueous extract triggers the mitochondrial pathway of apoptosis in BL41 burkitt's lymphoma cells*. *IJGP*.
- Benchaabane, A., & Abbad, A. (1997). *Les plantes médicinales commercialisées à Marrakech - Mem. Doc. Etat. (ined)*. Ed. Info, Marrakech,.
- Benedetti, J. (2006). *Le henné*. *Bulletin d'Information Toxicologique*.
- Benkhnigue, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A., & Douira, A. (2011). *Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc)*. *Acta Bot. Barc*.
- Benlamdini, N., Elhafian, M., Rochdi, A., & Zidane, L. (2014). *Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale du Haut Atlas oriental (Haute Moulouya)*. Laboratoire de Biodiversité et Ressources Naturelles, Université Ibn Tofail, Faculté des Sciences, Kénitra, Maroc.
- Biologie Analyse et contrôles microbiologie*. (s.d.). BTS.
- Boskabady, M., Mohsenpoor, N., & Takaloo, L. (2010). *Antiasthmatic effect of nigella sativa in airways of asthmatic patients*. *Phytomedicine*.
- Bottin, I. (2006). *Déterminants de la variation moléculaire et phénotypique d'une espèce forestière en milieu insulaire : cas de Santalum austrocaledonicum en Nouvelle-Calédonie*. Montpellier: Thèse de doctorat.
- Bouhdid, S., Abrini, J., & Zhiri, A. (2009). *Investigation of functional and morphological changes in Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus cells induced by Origanum compactum essential oil* (Vol. 106). *J. Appl. Microbiol*.
- Bouhdid, s., Zhiri, A., & Abrini, J. (2019). *Investigation of functional and morphological changes in Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus aureus cells induced by Origanum compactum essential oil* (Vol. 106). *J. Appl. Microbiol*.
- Bourdel, G. (2015). *Diversité des organismes endophytes dans les racines de plantes poussant en milieu contaminé en hydrocarbures* (Vol. 10 28 T15:48:40Z). <http://hdl.handle.net/1866/12527>.

- Bourkhiss, M., Lakhlifi, T., & Ouhssine, M. (2016). *Intéret de l'huile essentielle du thuya de Berberie* (Vol. 14). (Phytothérapie, Éd.)
- Bousliman, M., Ait el cadi, R., EL Jaoudi , A., Laatiris, A., & Bouklouze, Y. (2012). *Médecine du Maghreb* (Vol. 196).
- Bousliman, M., Ait el cadi, R., EL Jaoudi, A., Laatiris, A., & Bouklouze, Y. (2012). *Médecine du Maghreb*.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Abrini, A., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017). *Indigenous knowledge of the use of medicinal plants in the North-West of Morocco and their biological activities* (Vol. J. Integ. Med. 13). Europ.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2016). *Essential oils as anticancer agents : News on mode of action* (Vol. DOI: 10.1007/s10298-016-1058-z). Phytothérapie.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2016). *Les huiles essentielles comme agents anticancéreux : actualité sur le mode d'action. Phytothérapie* (Vol. g;14. DOI 10.1007/s10298-016-1058-z).
- Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017). *Phytochemical Screening and Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Origanum compactum Extracts* (Vol. DOI: 10.1007/s10298-017-1101-8.). Phytothérapie.
- Bouyahya, A., Abrini, J., El-Baabou, A., Bakri, Y., & Dakka, N. (s.d.). *Determination of phenol content and antibacterial activity of five medicinal plants ethanolic extracts from North- West of Morocco* (Vol. 7: 342). 2016: J Plant Pathol Microbiol.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Khay, E., Charfi, S., Boujida, N., EL Harsal, A., . . . Dakka, N. (2016). *In vitro Antibacterial of organic extracts from North-West Moroccan Medicinal Plant Myrtus communis (L.)* (éd. 16,19). British Biotechnology Journal.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Talbaoui, A., Et-Touys, A., Chatoui, K., Harhar, H., . . . Dakka, N. (2017). *Phytochemical Screening, Antiradical and Antibacterial Activities of Cistus crispus from Morocco* (Vol. 8). Journal of Materials and Environmental Sciences.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Belmehdi, O., Et-Touys, A., Abrini, J., & Dakka, N. (2017). *Phenolic extracts of Centaurium erythraea with novel antiradical, antibacterial and antileishmanial activities*. Asia.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Belmehdi, O., Et-Touys, A., Abrini, J., & Dakka, N. (2017). *Phenolic extracts of Centaurium erythraea with novel antiradical, antibacterial and antileishmanial activities* (Vol. Pac J Trop. Dis. 7). Asia.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., . . . Dakka, N. (2017). *Resistance to Antibiotics and Mechanisms of Action of Essential Oils against Bacteria* (Vol. DOI 10.1007/s10298-017-1118-z). Phytothérapie.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Khay, E., Edaoudi, F., Talbaoui, A., Et-Touys, A., . . . Dakka, N. (2017). *Antibacterial, antioxidant and antitumor properties of Moroccan medicinal plants* (Vol. Trop. Dis 7). Asian Pacif.
- Bruneton, J. (1996). *Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Technique et Documentation, Lavoisier.*
- Bruneton, J. (1999). *Activité anti-proliférative, cytotoxique et antioxydante de l' extrait de Juglans regia* (Vol. 418-419). Paris: Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Dans : Technique et Documentation Lavoisier,.

- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, 3eme édition, Tec et Doc (ED)* (Vol. 658-666). Paris.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales* (Vol. 721-741). Paris: Technique & Documentation.
- Butterfly. (2009). *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales* (Vol. 12 :21). (É. m. internationales, Éd.) Paris: Modération du forum de médecin.runeton.
- callebant, A. (2005). *PAGE de centre d'étude et de recherches vétérinaires et agrochimique*.
- Chaouki, w., Leger, J., & Eljastimi, J. (2010). *Hmamouchi, Antiproliferative effect of extracts from Aristolochia baetica*.
- Chatoui, K., Talbaoui, A., Aneb, M., Bakri, Y., & Harhar, H. (2016). *Phytochemical Screening, Antioxidant and Antibacterial activity of Lepidium sativum seeds from Morocco* (Vol. Sci. 7(8)). J. Mater. Environ.
- Chevallie, A. (2001). *Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition)*.
- Cowan, M. (1999). *Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microb* (Vol. 10). Biol.
- D, A. (2006). *Contribution à une étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la ville de Salé (Maroc)*. Diplôme d'Etudes Supérieures Approfondies. Université Mohammed 5.
- Dawidowicz, A., Olszowy, M., & Józwick-Doleba, M. (2014). *Importance of solvent association in the estimation of antioxidant properties of phenolic compounds by DPPH method* (Vol. 52(7)). J Food Sci Technol.
- Dibong, S., Mpondo, M., Nigoye, A., & Kwin, M. (2011). *Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun [Ethnobotany and phytomedicine of medicinal plants sold in Douala markets]* (Vol. 37). Journal of Applied Biosciences.
- Doughari, J., Human, I., Bennade, S., & Ndakidemi, P. (2009). *Phytochemicals as chemotherapeutic agents and antioxidants: Possible solution to the control of antibiotic resistant verocytotoxin producing bacteria* (Vol. 3(11)). Journal of Medicinal Plants Research.
- El Hilaly, J., Hmamouchi, M., & Lyoussi, B. (2003). *Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco)* (Vol. 86). Journal of Ethnopharmacol.
- El Rhaffari, L. (2002). *Etude ethnobotanique, phytochimique et pharmacologique des plantes aromatiques et médicinales du Tafilalt*.
- El yahyaoui el idrissi, A., Talbaoui, A., Bouyahya, A., EL Boury, H., khouchlaa, A., Bakri, Y., & Tijana, M. (2018). *Ethnobotanical study on the bereztem plant (Aristolochia longa) used in the treatment of some diseases in the cities of Rabat, Sale and Temara (MOROCCO)*. journal of materials and environmental sciences.
- El yahyaoui el idrissi, A., Talbaoui, A., Bouyahya, A., EL Boury, H., khouchlaa, A., Bakri, Y., & Tijana, M. (2018). *Ethnobotanical study on the bereztem plant (Aristolochia longa) used in the treatment of some diseases in the cities of Rabat, Sale and Temara (MOROCCO)* (Vol. 9(6)). Journal of material and environmental sciences.
- El Yahyaoui, N., Ait ouaaziz, A., Sammama, S., Kerrouri, B., Bouabid, L., Lrhorfi, L., & Zidane, R. (2011). *Etude ethnobotanique: Plantes médicinales commercialisées à la province de Laâyoune; identification et utilisation O. Laboratoire de Nutrition et Santé, département de Biologie*, (Vol.

- Elqaj, M., Ahami, A., & Belghyti, D. (2007). *La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires*. (r. n. antibiotiques, Éd.) Maroc: Journée scientifique.
- Errajaji, A., Ouhdouch, F., & El-Anssari, N. (2010). *Usage des plantes médicinales dans le traitement du diabète de type 2 au Maroc*. (Vol. 4(3)). Médecine des Maladies Métaboliques.
- Essid, R., Msaada, K., & Rahali, F. (2015). *Antileishmanial and cytotoxic potential of essential oils from medicinal plants in Northern Tunisia* (Vol. 77). Indus Crop & Prod.
- Essid, R., Rahali, F., & Msaada, K. (2015). *Antileishmanial and cytotoxic potential of essential oils from medicinal plants in Northern Tunisia*. (Vol. 77). Indus Crop & Prod.
- Eurika sante par vidal beta, I. m. (2012).
- Favier, A. (2003). *Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique*. L'actualité chimique.
- Fennane, M., Ibn Tattou, C., Ouyahya, A., & Eloualidi, J. (2007). *Flore pratique du Maroc, manuel de détermination des plantes vasculaire: angiosperme (Leguminosae-Lentibulariaceae)* (Vol. 2). Travaux de l'institut scientifique, série botanique n° 38.
- Flesch, F. (2005). *Intoxications d'origine végétale* (Vol. 2). EMC-Médecine.
- Fleurentin, J. (2012). *L'ethnopharmacologie au service de la thérapeutique : Sources et méthodes* (Vol. 2(2)). Hegel.
- Fouché, F. (2000). *Marquet A et Hambuckers A. Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman-Liège*.
- Gadhi, C., Hatier, R., Mory, F., Marchai, L., Weber, M., Benharref, A., . . . Lozniewski, A. (2001). *Bactericidal properties of the chloroform fraction from rhizomes of Aristolochia paucinervis Pomel* (Vol. 57). Journal of ethnopharmacology.
- Gadhi, C., Weber, M., Mory, F., Benharre, A., Lion, C., Jana, M., & Lozniewski, A. (1999). *Antibacterial activity of Aristolochia paucinervis Pomel." Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 67(1)).
- Georgiou, M., Sianidou, L., Hatzis, T., Papadatos, J., & Koutselinis, A. (1988). *Hepatotoxicity due to Atractylis gummifera L* (Vol. 26).
- Ghaouas, S. (2014). *Intoxication par Peganum harmala (Centre Anti Poison pharmacovigilance du Maroc)*. (B. e. Licence Science et Techniques, Éd.)
- Giampietro, F., Favretto, D., Zancanaro, F., Fazzin, G., & Ferrara, S. D. (2008). *A case of b-carboline alkaloid intoxication following ingestion of Peganum harmala seed extract* (Vol. 179). Forensic Science International.
- Girodon, F., Blache, D., Monget, A., & Lombart, M. (1997). *Effect of a two-year supplementation with low doses of antioxidant vitamins and/or minerals in elderly subjects on levels of nutrients and antioxidant defense parameters* (Vol. 16). J Am Coll Nutr.
- Guillon, j. (2001). *page de futura-sante par futura-sciences*.
- H, A. B., & Blunden, G. (s.d.). *Pharmacological and toxicological properties of Nigella sativa*. Phytother.

- Haddouchi, F., & BENMANSOUR, A. (2008). *Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques*. Phytothérapie.
- Hajji, H., Talbaoui, A., Faris Elalaoui, F., Abdennebi, E., Bakri, Y., Aneb, M., & Elaissami, A. (2016). *In vitro evaluation of antibacterial action of Caralluma europaea on Rhodococcus equi extracts" Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* (Vol. 8(5)).
- Handa, S., Khanuja, S., Longo, G., & Rakesh, D. (2008). *Technologies d'extraction pour les plantes médicinales et aromatiques* (Vol. 260). Organisation des Nations Unies pour le développement industriel et Centre international pour la science et la haute technologie.
- Heinrich, M., Chan, J., Wanke, S., Neinhuis, C., & Simmonds, M. S. (2009). *Local uses of Aristolochia species and content of nephrotoxic aristolochic acid 1 and 2- A global assessment based on bibliographic sources* (Vol. 125). J. Ethnopharmacol.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. (2004). *Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif*. Phytothérapie.
- Hinou, J., Demetzos, C., Harvala, C., & Roussakis, C. (1990). *Cytotoxic and antimicrobial principles from the roots of Aristolochia longa*. Pharmaceutical Biology.
- Hiruma, K., Gerlach, N., Sacristán, N., Nakano, R., Hacquard, S., Kracher, B., . . . Schulze-Lefert, P. (2016). *Root endophyte Colletotrichum tofieldiae confers plant fitness benefits that are phosphate status-dependent*.
- Hmamouchi. (2001). *Les plantes médicinales et aromatiques marocaines*.
- Hmamouchi, M. (1997). *Plantes alimentaires, aromatiques, condimentaires, médicinales et toxiques au Maroc, CIHEAM*. Centre International de Hautes Etudes Agronomiques Méditerranéennes. Chania (Grèce) Cahiers Options Méditerranéennes ISSN 1022-1379 num.
- Hmamouchi, M. (1999). *Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Utilisations, biologie, écologie, chimie, pharmacologie, toxicologie — Imprimerie de Fédala*. Mohammedia (Maroc).
- Hseini, S., & Kahouadji, A. (2007). *Etude ethnobotanique de la flore médicinale dans la région de Rabat (Maroc occidental)*. Lazaroo.
- Hseini, S., Kahouadji, A., Lahsissène, H., & Tijane, M. (2011). *Analyses floristique et ethnobotanique des plantes vasculaires médicinales utilisées dans la région de Rabat (Maroc occidental) — Lazaroo*.
- (2010). <https://natyinfirmiere.files.wordpress.com/2010/10/les-bacteries.pdf>.
- (2002). *Intoxications d'origine végétale: généralités*. Encyclopédie Médico-Chirurgicale Toxicologie-Pathologie professionnelle.
- Iserin, P. (2001). *Encyclopedia of medicinal plants. 2nd Edition, Copyright 1996*. Londres: Dorling Kindersley Limited.
- Jansen, A., Cheffer, J., & Svendsen, A. (1987). *Antimicrobial activity of essential oils: 1976-1986 literature review. Aspects of test methods*. Planta Med.
- Japon-Lujan, R., Janeiro, P., & Luque de Castro, M. (2008). *-liquid transfer of biophenols from olive leaves for the enrichment of edible oils by a dynamic ultrasoundassisted approach* (Vol. 56). Journal Agricultural and Food Chemistry.
- Jausse, G. (2001). *futura-sante par futura-sciences*.

- Jouad, H., Haloui, M., Rhiouani, H., & El Hilaly, J. (2001). *Ethnobotanical survey of medicinal plants*. *Ethnobotanical survey of medicinal plants* (Vol. 77(2-3)). Ethnobotanical survey of medicinal plants.
- Kahouadji, M. (1995). *Contribution à une étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Maroc Oriental - Thèse de 3ème cycle*. Université Mohamed 1er, Fac. Sc., Oujda.
- Kamal, H. (1997). *Les plantes médicinales de la région de Taounate, Etude ethnobotanique et utilisation thérapeutiques*, Rabat. 184.
- Khouchlaa, A., Bouyahya, A., Ait Lahcen, S., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017). *Phytochemical screening, evaluation of antioxidant activity and litholytic effect of Zizyphus lotus L. extracts*. World Journal of Pharmaceutical Research.
- Khouchlaa, A., Talbaoui, A., El Yahyaoui El Idrissi, A., Bouyahya, A., Ait Lahcen, S., Kahouadji, A., & Tijane, M. (2017). *Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique in vitro sur la lithiase urinaire d'extrait de Zizyphus lotus L.d'origine marocaine*. Phytothérapie.
- Khouchlaa, A., Tijane, M., Chebat, A., Hseini, S., & Kahouadji, A. (2016). *Enquête ethnopharmacologique des plantes utilisées dans le traitement de la lithiase urinaire au Maroc*. Phytothérapie.
- Kima, M., Kunihsa, I., & Kunihsa, H. (2005). *Phenolic compositions of Viburnum dilatatum Thunb. Fruits and their antiradical properties* (Vol. 18). Journal of Food Composition.
- Klauke, A.-L., Racz, I., Pradier, B., Markert, A., Zimmer, A., Gertsch, J., & Zimmer, A. (2014). *The cannabinoid CB2 receptor-selective phytocannabinoid beta-caryophyllene exerts analgesic effects in mouse models of inflammatory and neuropathic pain* (Vol. 24).
- Kreit, J., Pierre, G., & Gérard, L. (1992). *Extracellular cholestérol oxidase from Rhodococcus sp. cells*. Journal of Biotechnology.
- Kriaucionis, S., & Brid, A. (2003). *DNA methylation and Rett syndrome*. *Hum Mol Genet*, (Vol. 12).
- Kupcha, S., & Duskotch, R. (1962). *Tumor inhibitors. I. Aristolochic acid, the active principle of Aristolochia indica*. Journal of Medicinal Chemistry.
- Kusari, S., & Spiteller, M. (2012). *Metabolomics of endophytic fungi producing associated plant secondary metabolites : progress, challenges and opportunities*. Metabolomics.
- LAGNIKA, L. (2005). *ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITE ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITE ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET ACTIVITE*. L'UNIVERSITE D'ABOMEY-CALAVI BENIN FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES.
- Lahsissene, H., & Kahouadji, A. (2010). *Analyse ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques de la flore marocaine : cas de la région de Zaër*. Phytothérapie.
- Lahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M., & Hseini, S. (2006). *Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental)*.
- Lahsissene, H., Kahouadji, A., Tijane, M., & Hseini, S. (2009). *Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental)*. Lejeunia.
- (2009). *Lejeunia revue de botanique, Nouvelle série N° 186 Décembre Aristolochia longa L.(Bereztum, Aristoloche)*. Lejeunia.

- Leopoldini, M., Prieto Pitarch, I., Russo, N., & Toscano, M. (2004). *Structure, Conformation, and Electronic Properties of Apigenin, Luteolin, and Taxifolin Antioxidants. A First Principle Theoretical Study* (Vol. 108(1)). The Journal of Physical Chemistry A.
- Liaw, J., Tsai, S., Lin, H., & Yen, T. (2012). *Wavelength-dependent faradaytyndall effect on laser-induced microubble in gold colloid. J.* (Vol. 113). Quant. Spectrosc.
- Libman, A., Bouamanivong, S., Southavong, B., Sydara, K., & Soejarto, D. (2005). *Médicinal plants: An important asset to healthcaie in a region of central Laos* (Vol. 4128). Journal of Ethnopharmacology.
- Mehdioui, R., & Kahouadji, A. (2007). *Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène : cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira)*. Bulletin de l'Institut Scientifique de Rabat, Section Sciences de la Vie.
- Merghoub, N., El Btaouri, H., & Benbacer, L. (2016). *Inula Viscosa Extracts Induces Telomere Shortening and Apoptosis in Cancer Cells and Overcome Drug Resistance*. Nutrition Cancer.
- Mideo, N., Nelson, W., & Reece, S. (2011). *Bridging scales in the evolution of infectious disease life histories: application*. Evolution.
- Mulligen, M., Murry- Leisure, k., Ribner, B., Standiford, H., & Yu, V. (1993). *Methicillin resistant Staphylococcus aureus.* " American Journal of Medicine.
- OMS. (2000). *Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle*.
- OMS. (2002). *Stratégie de l'OMS pour la Médecine Traditionnelle pour 2002-2005*. Genève.
- OMS. (2013). *Panorama mondial de l'hypertension:un tueur silencieux responsable d'une crise de santé publique*. Journée mondiale de la santé.
- OMS. (2015). *Maladies cardiovasculaires Aide-mémoire*.
- OMS. (2015). *The WHO 2014 global tuberculosis report*. The Lancet Global Health.
- Ozcelik, B., Lee, J., & Min, D. (2003). *Effects of Light, Oxygen, and pH on the absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (Vol. 68). Food Chem. Toxicol.
- PAGM, D. S. (1993). *An introduction to herbal pharmacoepidemiology Ethnopharmaco* (Vol. 138).
- Patrick Bacquaert. (2015). SOURCE: <http://www.irbms.com/steroides-anabolisants>.
- Popovici , C., Saykova, I., & Tylkowski, B. (2009). *Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical DPPH* (Vol. 4). Revue de génie industriel.
- Rafik, S. (2014). *Mag femmes Les plantes aromatiques et médicinales, Un exemple de développement humain au Maroc la coopérative féminine de Ben Karrich –Tétouan exposition photographique Jean-Christophe Tardivon et Chadouli Si-Mohamed du 5 novembre au 8 décembre 2012*.
- Rao, M., Rao, Y., Prabhkar, M., & Muralidhar, N. (1998). *Anti-nociceptive and anti-inflammatory activity of flavonoid isolated from Caralluma attenuate* (Vol. 62). Journal of Ethnopharmacology.
- Ravikumar, K., Krishnan, & Ramalingam, S. (2007). *Optimization of process variables by the application of response surface methodology for dye removal using a novel adsorbent* (Vol. 72). Dyes Pigments.

- Rhalem, N., Khattabi, A., Soulaymani, A., Ouammi, L., & Soulaymani, B. (2008). *Etude rétrospective des intoxications par les plantes au Maroc : Expérience du Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc(1980-2008)* (Vol. 5). Toxicologie Maroc.
- Rodriguez, R., White, J., Arnold, A., & Redman, R. (2009). *Fungal endophytes: diversity and functional roles* *New Phytol.*
- Saikkonen, k., Faeth, S., Helander, M., & Sullivan, T. (1998). *Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants.* (Vol. 29). *Rev. Ecol. Syst.*
- Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., & Douira, A. (2010). *Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc)* (Vol. 31). Lazaroa.
- Salki, S., & soulayman, B. (2008). *centre de pharmacovigilance de Maroc Révisé mai 2003*. Rabat.
- Salta, F., Mylona, A., Chiou, A., & al, e. (2007). *Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract* (Vol. 13). *Food Sci Technol Int.*
- Schaenberas et Paris, 2. (2014). *journal Applied Bioscience.*
- Scherrer, A., Motti, R., & Weckerle, C. (2005). *Traditional plant use in the areas of Monte Vesole and Ascea, Cilento National Park (Campania, Southern Italy) — J* (Vol. 97). *Ethnopharmacol.*
- Searl, C., & Jones, E. (1977). *Effects of repeated applications of 2 semi-permanent hair dyes to the skin of A and DBAF mice.* *Brit. J* (Vol. 36 (4)). *Cancer.*
- Seshata. (2011). *SOURCE: https://sensiseeds.com/fr/blog/proprietes-curatives-des-terpenes-terpenoides/Guillon_jausse.*
- Shafer, N., & Shafer, R. (1975). *A new carcinogen (Preliminary report).* *Curr* (Vol. Res 17(4)). *Therapeut.*
- Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. (s.d.). *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent* (Vol. 299). *Methods in Enzymology.*
- SITE :https://www.libe.ma/Les-plantes-aromatiques-et-medicinales-du-Maroc_a10491.html.* (s.d.).
- Smithson, A., Chico, J., Ramos, C., Netto, M., Sanchez, J., Ruiz, R., . . . Bastida, T. (2012). *Prevalence and risk factors for quinolone resistance among Escherichia coli strains isolated from males with community febrile urinary tract infection* (Vol. 31). *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.*
- Souad, S. (2011). (L'opinion.ma, Éd.) *CAMP.*
- SOURCE: http://www.ecosociosystemes.fr/classification_bacterienne.* (s.d.).
- SOURCE: http://www.odec.ca/projects/2003/clark3j_page1.html.* (s.d.).
- Sousa, A., Ferreira, I., Barros, L., Bento, A., & Pereira, A. (2008). *Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives "alcaparras"* (Vol. 41). *Learning with Technologies.*
- Strobel, G. (2002). *Rainforest Endophytes and Bioactive Products* (Vol. 22(4)). *Critical Reviews in Biotechnology.*
- Tabuti, J., Lye, K., & Dhillion, S. (2003). *Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration* (Vol. 88). *J. Ethnopharmacology.*

- Tahri, N., El basti, A., Zidane, L., Rochdi, A., & Douira. (2012). *Etude ethnobotanique des plantes médicinales Dans La Province De Settat (Maroc)*. Journal of Forestry Faculty.
- Talbaoui, A., El Hamdaoui, L., El Moussaouiti, M., Aneb, M., Amzazi, S., & Bakri, Y. (2016). *GC-MS analysis and antibacterial activity of hydro - distillation oil from Tetraclinis articulata wood grown in Khemisset (Morocco)* (Vol. 13(2)). J Indian Acad Wood Sci.
- Talbaoui, A., Jamaly, N., Aneb, M., Il Idrissi, A., Bouksaim, M., Gmouh, S., . . . Bakri, Y. (2012). *Chemical composition and Antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants* (Vol. 6(31)). Journal of Medicinal Plants Research.
- Tan, R. X., & Zou, W. (2001). *Endophyt: A rich source of functional metabolites* (Vol. Rep., 18(4)). Nat Prod.
- Weyerstahl, P., Marschall, H., Splittgerber, U., & Wolf, D. (1996). *New sesquiterpene ethers from vetiver oil* (Vol. 7). Liebigs Annalen.
- WHO. (2000). *Système de santé : Améliorer la performance*. Genève.
- WHO. (2013). *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014–2023*. Genève.
- Zekkour, M. (2008). *Les risques de la phytothérapie, Monographies des plantes toxiques les plus usuelles au Maroc*. Université Mohamed 5, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat.
- Zhang, H. W., Song, Y., & Tan, R. (2006). *Biology and chemistry of endophytes* (Vol. Rep., 23(5)). Nat Prod.
- Ziyyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni, M., & Benjelloun, W. (1997). *Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco* (Vol. 58). Ethnopharmacology.
- Zviak, C., & Sidi, E. (1966). *Problèmes capillaires*. Villars, Paris.
- (2002). *Intoxications d'origine végétale: généralités* . Encyclopédie Médico-Chirurgicale Toxicologie-Pathologie professionnelle.
- (2009). *Lejeunia revue de botanique, Nouvelle série N° 186 Décembre Aristolochia longa L.(Berezum, Aristoloche)*. Lejeunia.
- (2010). <https://natyinfirmiere.files.wordpress.com/2010/10/les-bacteries.pdf>.
- (septembre 2010). *Acte du colloque international de SIFEE sur les effets de la réduction de la diversité floristique la santé des populations rurales au sud du Bénin*. Paris.

**Fiche questionnaire –Enquête ethnobotanique sur la plante *Bereztem(aristolochia longaL.)* utilisées pour le traitement des maladies dans la population
Rabat, Salé et Témara**

***Profil de l'informateur:**

1/ **Age** : ≤20] 20-30]] 30-40]] 40-50]] 50-60[≥60

2/ **Genre** : Masculin Féminin

3/ **Niveau d'étude** : Analphabète Primaire- Collège Secondaire Universitaire

4/ **Situation familiale** : Célibataire Marié(e) Divorcé(e) veuf (ve)

5/ **Revenu mensuel** : Pas d'emplois 250-1500DH 1500-5000DH 5000-10000DH >10000

6/ **Origine de l'information** : Lecture Expérience des autres Pharmaciens
Herboristes (Achab –Attar) Média

7/ **Connaissez-vous la dose de la plante médicinale citée ?** Oui Non

8/ **Quels sont les effets de l'utilisation de cette plante ?** Guérison Effets secondaires
Intoxication Amélioration Evolution de la maladie Aucune idée

12/ **L'utilisation de la plante :**

Partie utilisée	Mode de préparation	Prescription

Partie utilisée

1. Partie souterraine
2. Tige
3. Feuille
4. Tige + Feuille
5. Fleur
- 6- Fruit
7. Bulbe
8. Plante entière

Mode de préparation :

1. Infusion
2. Décoction
3. Cataplasme
4. Macération
5. Inhalation
6. Friction
7. Injection
8. Poudre
9. Nature
10. Diver

Production Scientifique



RISK OF INTOXICATION THE PLANTS MORE USED IN HERBAL MEDICINE IN MOROCCO

El Yahyaoui El Drissi A.^{*1}, Khouchlaa A.², Bouyahya A.³, Chebat A.^{1,2}, Soulaymani Bencheikh R.², Talbaoui A.¹, Bakri Y.¹, Tijane M.¹

¹Biology Laboratory of human pathologies, faculty of sciences) Center of genomics of human pathologies University Mohammed V of Rabat-Maroco.

²National Center for Pharmacovigilance, Rabat.

Article Received on
15 Feb. 2017.

Revised on 11 March 2017,
Accepted on 31 March 2017

DOI: 10.20959/wjpr20174-8154

***Corresponding Author**
El Yahyaoui El Drissi A.
Biology Laboratory Of
human pathologies, faculty
of sciences) Center of
genomics of human
pathologies University
Mohammed V of Rabat-
Maroco.

ABSTRACT

Plants constitute a rate of 5,1 % of the indicated poisonings, during the period 1980 to 2002, in the anti-Poisons center of Morocco (APCM), any confusedcauses, except the stingsand the scorpionic envenomations, taking into account the sub-notification of the cases of plant poisoning. A retrospective study of all the cases of medicinal plant poisonings, collectedin the Anti-poison and the Pharmacovigilance center of Morocco(APCM), at a duration of twenty eight years going from January 1980 to December, 2012, showed a frequency of mortality by healing plants used for the cancer treatment which not exceeding a rate of 1%. On the other hand, the Symptomatic distribution showed that the majority of the cases of poisonings were unknown (30%), followed by digestive signs (12%) and by thermal disorders (10%). Among these species, we have selected the most used

plants in herbal medicine in Morocco. The main plants that caused poisoning in Morocco in recent years, according to the APCM, there are *Peganum harmala* (50%), *Nigella sativa* (11%), *Lawsonia inermis* (7.5%), oleander (5.8%) *Dysphania ambrosioides* (5.1%). Twelve non- toxic plants can become toxic because they contain phytochemicals, such as *Camellia sinensis* (Green tea), *Artemisia absinthium* (Chaba) and *Zingiber officinale* (Skingbir).

KEYWORDS: Plants, herbal medicine; retrospective study; poisoning; mortality; Morocco.



Ethnobotanical study on the Bereztem Plant (*Aristolochia longa*) used in the treatment of some diseases in the cities of Rabat, Sale and Temara (Morocco)

A. El yahyaoui El idrissi¹, A. Talbaoui^{1*}, A. Bouyahya¹, A. Khouchlaa¹,
Y. Bakri¹, D. Salah¹, M. Tijane¹

¹Biochemistry-Immunology Laboratory, Department of Biology, Faculty of Sciences, Mohammed V University, Rabat, Morocco

Received 04Jan 2017,

Revised 16Oct 2017,

Accepted 27 Oct 2017

Keywords

- ✓ Medicinal plant;
- ✓ *Aristolochia Longa*;
- ✓ Ethnobotany;
- ✓ Anticancer;
- ✓ Rabat
- ✓ Sale
- ✓ Temara

Pr. Ahmed Talbaoui

atalbaoui@yahoo.fr

Phone: 0666759057

Abstract

An ethnobotanical study was conducted in the cities of Rabat, Sale and Temara. It was developed for identification of the plant *Aristolochia longa* Named locally *Bereztem* and traditional therapeutic use practiced by this population. From 176 question cards, we collected some information and be able to document this knowledge. The results of this study give a general overview of the profile of the users of this herb and the healing power of this plant. Analysis of the results obtained from the questionnaires record showed that the underground part is the most used part. The majority of remedies are prepared in powder form which is mixed with honey. Of all the diseases treated, cancer diseases are the most mentioned diseases. All this information is an important step for future research aimed to determine the exact dose needed to achieve the desired result for the treatment of cancer.

1. Introduction

Since ancient times, plants have been used in the treatment of diseases. There is increasing in the health and wellness benefits of herbs. According to the World Health Organization [1], more than 80% of the world's population relies on traditional medicinal for their primary healthcare needs. Active compounds produced during secondary metabolism are usually responsible for the biological properties [2]. Approximately 60% of drugs currently used for cancer treatment have been isolated from natural products ;taxol, vincristine and vinblastine isolated from *Taxus sp.* and *Catharanthus roseus*. Furthermore, more than 1200 plant species have been found to exhibit antidiabetic properties [3]. From the last years, we have focused on an intensive pharmacological analysis of medicinal plants, especially anti-diabetic plants used in traditional phytotherapy in order to discover new potential and natural remedies susceptible to enrich the therapeutic arsenal of diabetes. For High blood pressure or hypertension, attention has been recently focused towards herbal preparations which are traditionally used as potential therapeutic agents in the prevention and management of hypertension and cardio-vascular system [4, 5]. For diuretic activity, a vast number of plants are receiving more attention in ethnomedicine as diuretic agents. Because of this strong dependence on plants as medicines, it is important to study their safety and efficacy [6].

Morocco has an enormous unexplored potential of medicinal plants that are used in traditional medicine [7]. The heterogeneous ecologic conditions have favoured the proliferation of a diverse group of plant[8]. About 4560 species and subspecies of vascular plants are reported as spontaneous in the Moroccan flora [6, 9].

In the last decades, some institutions of higher learning have shown great interest in medicinal plants found in several regions of Morocco in the field of ethnopharmacology [6, 10]. However, few plants have been scientifically studied for the assessment of their quality, safety and efficacy against diseases [11, 12].

The aim of this paper was to review the therapeutic research undertaken on Moroccan medicinal plant ethnobotanical study is conducted on the Bereztem plant (*Aristolochia longa*) used in the treatment of urolithiasis in the cities Rabat, Sale and Temara (Morocco). Data are reported on its pharmacological activity and it also describes the methodology used.



In vitro Screening of Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils from Four Moroccan Medicinal Plants

Abdelhakim Bouyahya^{1,2*}, Youssef Bakri¹, Abdeslam Et-Touys¹,
Ahmed Talbaoui¹, Aya Khouchlaa¹, Amina El Yahyaoui El Idrissi¹,
Jamal Abrini² and Nadia Dakka¹

¹Laboratory of Biochemistry and Immunology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Mohammed V University, Rabat, Morocco.

²Laboratory of Biology and Health, Department of Biology, Faculty of Science, Abdelmalek Essaadi University, Tetouan, Morocco.

Authors' contributions

This work was carried out in collaboration between all authors. All authors read and approved the final manuscript.

Article Information

DOI: 10.9734/MRJI/2017/30073

Editor(s):

(1) Xing Li, Division of Biomedical Statistics and Informatics, Department of Health Sciences Research, Mayo Clinic College of Medicine, USA.

Reviewers:

(1) Leon Raul Hernandez Ochoa, University of Chihuahua, Chihuahua, Mexico.

(2) Jesus Miguel López Rodilla, University of Beira Interior, Portugal.

(3) Sunday O. Okoh, University of Fort Hare, Eastern Cape, South Africa.

(4) El Kolli, University of Sétif, Algeria.

(5) Bertha Irene Juárez Flores, Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Mexico.

Complete Peer review History: <http://www.sciencedomain.org/review-history/17792>

Original Research Article

Received 15th October 2016

Accepted 13th December 2016

Published 10th February 2017

ABSTRACT

Aims: Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of essential oils extracted from *Salvia officinalis*, *Mentha viridis*, *Eucalyptus globulus* and *Myrtus communis* from Ouezzane province.

Study Design: *In vitro* evaluation of antibacterial and antioxidant activities of medicinal plants essential oils (EOs).

Place and Duration of Study: Department of Biology (Faculty of Sciences), July, 2015 to September, 2016 (15 Months).

Methodology: Essential oils were extracted by hydrodistillation method, while agar well diffusion,

*Corresponding author: E-mail: boyahyaa-90@hotmail.fr;

Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique *in vitro* sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine

Determination of Phenol Content and Evaluation of *in vitro* Litholytic Effects on Urolithiasis of Moroccan *Zizyphus lotus* L. Extract

A. Khouchlaa · A. Talbaoui · A. El Yahyaoui El Idrissi · A. Bouyahya · S. Ait Lahsen · A. Kahouadji · M. Tijane

© Lavoisier SAS 2017

Résumé *Zizyphus lotus* L., espèce méditerranéenne, est commune au Maroc. Elle est utilisée dans la phytothérapie traditionnelle pour traiter la lithiase urinaire. Cette dernière représente au Maroc la deuxième cause d'hospitalisation en urologie après l'adénome de la prostate. Dans le but de valoriser et d'évaluer l'efficacité des fruits de *Zizyphus lotus* L. sur la dissolution des calculs, nous avons dosé les polyphénols totaux et les flavonoïdes puis évalué l'effet de l'extrait aqueux du fruit de *Zizyphus lotus* L. sur la dissolution de deux types de calculs rénaux. Les teneurs des polyphénols varient entre 34,63 et 40,49 mg EAG (équivalent acide gallique)/mg d'extrait pour l'extrait organique et 285,19 mg EAG/mg d'extrait pour l'extrait aqueux. Alors que celles des flavonoïdes varient entre 16,60 et 33,44 mg EQ (équivalent quercétine)/mg d'extrait pour l'extrait organique et 2,66 mg EQ/mg d'extrait pour l'extrait aqueux. L'extrait *n*-hexane présente la teneur la plus élevée, 33,44 mg EAG/mg d'extrait. Quant à l'étude *in vitro*, nous avons observé que l'extrait aqueux a un effet de dissolution plus important sur les calculs d'acide urique (10 %) que sur les calculs d'oxalate de calcium. Alors que l'effet du citrate et de NaCl sur la réduction de la masse des calculs est faible.

Mots clés *Zizyphus lotus* L. · Calculs · Oxalate de calcium · Acide urique · Dissolution *in vitro* · Polyphénols · Flavonoïdes

Abstract *Zizyphus lotus* L., a Mediterranean plant, is commonly found in Morocco. It is used in traditional herbal medicine to treat urolithiasis. This disease is the second cause of hospitalization in urology after prostate adenoma in Morocco. In order to develop and evaluate the effectiveness of fruit *Zizyphus lotus* L. on the dissolution of kidney stone, we have firstly dosed the total polyphenols and flavonoids. On the other hand, we have evolved the effect of aqueous extract of the fruit *Zizyphus lotus* L. on two types of kidney stones. The total phenol content of the four extracts of *Zizyphus lotus* L. ranged between 34.63 and 40.49 mg GAE(Gallic acid equivalent)/mg extract for organic extracts and 285.19 mg GAE/mg extract for water extracts. The flavonoid content ranged between 16.6 and 33.44 mg QE(Quercetin equivalent)/mg extract for organic extracts and 2.66 mg QE/mg extract for water extracts. Hexanic extract has the highest content of 33.44 mg GAE/mg of extract. With *in vitro* study, we observed that the aqueous extract has a better effect on dissolution of uric acid stones (10%) than on the calcium oxalate stones. While with citrate and NaCl, the reduction in the mass of kidney stones is small.

Keywords *Zizyphus lotus* L. · Kidney stones · Calcium oxalate · Uric acid · *In vitro* dissolution · Polyphenols · Flavonoids

A. Khouchlaa (✉) · A. Talbaoui · A. El Yahyaoui El Idrissi · A. Bouyahya · M. Tijane
Laboratoire de biochimie et immunologie,
département de biologie,
faculté des sciences, université Mohammed-V, Rabat, Maroc
e-mail : a.khouchlaa@yahoo.fr

S. Ait Lahsen
Laboratoire des matériaux nanotechnologie et environnement,
département de chimie,
faculté des sciences, université Mohammed-V, Rabat, Maroc

A. Kahouadji
Département de biologie, faculté des sciences,
université Mohammed-V, Rabat, Maroc

Introduction

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car

Résumé

Aristolochia Longa est une plante médicinale, utilisée encore par la population marocaine, pour traiter plusieurs maladies, y compris le cancer. L'étude, présentée dans ce mémoire de thèse, est faite pour vérifier expérimentalement son utilisation traditionnelle et de valoriser son champignon Endophyte *Fusarium tricinctum*.

Dans cette étude, l'enquête ethnobotanique réalisée dans les villes de Rabat, Salé et Témara a montré que l'Aristolochie est une plante abortive employée lors des accouchements. La racine de *Bereztem* est fréquemment utilisée pour traiter l'une des pathologies les plus dangereuses, à savoir le cancer avec un pourcentage de 24,9%, ainsi que les maladies de palpitations de l'aorte (Boumezwi), de la constipation, des affections intestinales, des maladies cutanées, des blessures. Les IC50 de chacun des différents extraits ont été déterminés. Une valeur plus faible de l'IC50 indique une activité antioxydante plus élevée. L'extrait MeOH a présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée (IC50 = 1.32mg/ml), suivie par l'extrait hexane avec une IC50 de l'ordre de 6.58mg/ml. Pour les champignons, l'extrait du Dichlorométhane a présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée (IC50 = 1.02mg/ml). Par contre l'extrait MeOH est présenté par une activité de (IC50 = 1.79mg/ml).

In vitro, les résultats obtenus indiquent que l'extrait hexanique et l'extrait dichlorométhanique de la plante d'*Aristolochia Longa* et son Champignon Endophyte, se sont avérés induire des activités inhibitrices significatives et dépendantes de la dose contre la lignée de cellules cancéreuses humaines et animales (RD, PBMC, VERO). De plus, ces extraits se sont avérés plus actifs contre les souches bactériennes pathogènes choisies (*Rhodococcus equi*, *Rhodococcus ssp* GK2, *Rhodococcus ssp* GK3). Il reste intéressant d'évaluer l'activité cytotoxique de plantes sélectionnées in vitro sur d'autres lignées de cellules cancéreuses. Il serait encore primordial d'étudier l'efficacité de cette plante et du champignon endophytique in vivo.

Mots clés : *Aristolochia Longa*, *Fusarium tricinctum*, plantes médicinales, ethnopharmacologie, phytothérapie, intoxication, activité antibactérienne, activité antioxydante, cytotoxicité, Maroc.