

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ferhat Abbas - Sétif

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biochimie

Mémoire de Magister

Spécialité : Biochimie

Option: Biochimie Appliquée

Thème

Étude de la toxicité des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. sur les animaux de laboratoire

Présenter par:

ALLOUNI Rima

Devant le jury:

Président : Pr. Houcher Bakhouché

Prof. Université de Sétif

Encadreur : Dr. Bouzidi Abdelouahab

MC. Université de Sétif

Examineur: Dr. Belhattab Rachid

MC. Université de Sétif

Dr. Djirar Nacer Eddine

MC. Université de Sétif

2010- 2011

Remerciement

Je remercie Dieu

A mon président de thèse

Pr.Houcher Bakhouche

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Hommage respectueux,

A notre jury de thèse

Dr. Djirar Nacer Eddine

Dr. Belhattab Rachid

Qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail

Que ce travail soit le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A mon directeur de thèse

Dr. Bouzidi Abdelouahab

De m'avoir accordé sa confiance en m'acceptant pour travailler sur ce sujet avec lui. Il a suivi mes travaux avec intérêt tout en me prodiguant des conseils toujours justes. Et il a su me redonner courage et aider à traverser des moments difficiles et des instants de doute. Je tiens tous particulièrement à le remercier profondément pour son aide appréciable, sa grande disponibilité et sa compréhension.

A mes parents

Pour leurs conseils, leur soutien et leur grand amour.

A mes sœur Sabra, Imen, Rahma, Hadil et mon unique frère Abdelkrim

Pour m'avoir supporté durant ces nombreuses années.

A ma formidable amie Hassina

*Qui m'a encouragé et aidé durant cette épreuve,
et avec elle je partage mes souffrances.*

A mes collègues de lycée de Maazou Saiid-Ain El Kbir chaque un par son nom

A m'encourager toujours et avec eux j'ai partagé de très bons moments.

A mon amie Fayssal

Pour sa compréhension et ces conseils et sa grande confiance, je te remercie Fayssal.

A Messieurs Aoudi, Rejachta, El Eulmi et Madi

Pour votre aide, merci beaucoup.

A Madame Malika et Abla

Avec eux j'ai passé un excellent stage.

A mes amis de la promotion

Pour ces excellents moments passés ensemble.

A madame Nadia, Zahra, Asma, Hanane et Abdelnacer

*Pour leurs aides, leur dévouement
et leur gentillesse tout au long de ma thèse.*

*Et à tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement à cette thèse et m'ont permis de
m'épanouir durant mes études en Magistère.*

Liste d'abréviations

Ca⁺: Calcium.

CCM: Chromatographie sur Couche Mince.

Créat : Créatinine.

DL50: Dose Létale 50

EC50: Concentration Effective à 50 %.

FNS : Formule Numérique Sanguine.

Glu : Glucose.

HCT: Hématocrite.

HGB: Hémoglobine.

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

IP : Intra Péritonéal.

IP3: Inositol 1, 4, 5-triphosphate.

MCH: Teneur Corpusculaire en Hémoglobine.

MCHC (CCMH): Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine.

MCV (VGM): Volume Globulaire Moyen.

mM: millimolaire.

mm³: Millimètre cube.

MPV (VPM) : Volume Plaquettaire Moyen.

nm: Nanomètre.

PAL : Phosphatase Alcaline.

PBS: Phosphate Buffered Saline.

PLT: Plaquettes.

RBC (GR): Red Blood Cells (les Globules Rouges).

SEM: Standard Error of Mean.

SD: Standard Deviation.

TGO (ALAT): Transaminase Glutamate Oxalo-acétate.

TGP (ASAT): Transaminase Glutamate Pyruvate.

WBC: Wight Blood Cells (les globules blancs).

المخلص

داتورا سترامينوم تنتمي إلى عائلة الباذنجانيات. هي نبتة عشبية سنوية، متواجد في الحقول، وتعود سميته إلى القلويدات المتمثلة في الأتروبين و سكوبولمين والهوسيمين الموجودة في كافة أجزاء النبتة.

الاستخلاص محلول-محلول للقلويدات العامة الموجودة في بذور الداتورا سمحت لنا بالحصول على مردود 0.08 غ \pm لكل 80 غ، والتحليل النوعي للمستخلص أكد وجود القلويدات في غالبيتها هي عبارة عن الأتروبين وسكوبولمين وقد حدد التحليل النوعي والكمي وجودها على الأقل على التوالي 6 ملغ، 2ملغ لكل 80 غ في البذور.

دراسة السمية الحادة للقلويدات في ذكور وإناث الفئران من تحديد الجرعة القاتلة $DL 50$ بـ 203 ملغ/كلغ عند الإناث و 303 ملغ/كلغ عند الذكور.

الدراسة السمية الحادة للجرذان والفئران الذكور بالحقن تحت الصفاق مستعملين الجرعة 100 ملغ/كلغ و60 ملغ/كلغ لم تظهر أي تغيير معتبر في السلوك، مع وجود فروق معنوية في الوزن المطلق لكل من الكلى والخصيتين عند الجرذان، الرئة والمخ عند الفئران بعد اليوم الخامس، من التجربة. سجلت العوامل المصلية المتعلقة بوظيفة الكلى وجود تغيرات كبيرة في كل من اليوريا والصوديوم بعد اليوم الخامس عند الجرذان ، كما سجلت القياسات البيوكيماوية المصلية والمتعلقة بوظيفة الكبد تغيرات معتبرة في الترנסأميناز و الغلوكوز بعد اليوم الأول والخامس عند الفئران.

أظهرت المقاطع النسيجية المرضية وجود احتقان للأوعية الدموية وبؤر النخر في الكبد عند الفئران الذكور. الدراسة شبه حادة عند الجرذان الذكور المعالجة بالقلويدات التجارية بالجرعة 4.02 ملغ/كلغ من كبريتات الأتروبين و2.01 ملغ من هيدرو كلوريد سكوبولامين وجود تغير معتبر في الوزن المطلق للمخ والكبد. كما أثبتت العوامل الدموية وجود نقص حاد للكريات الحمراء والهيموغلوبين. التغيرات التشريحية تثبت احتقان للأوعية الدموية في الكلى وبيليوز وبؤر النخر في الكبد.

اختبار التحليل الدموي على دم الفئران والجرذان في تراكيز مختلفة لمستخلص القلويدات الكلية لبذور نبتة الداتورا سترامينوم بينت ارتفاعا في التحلل الدموي مقارنة بالكريات الحمراء الشاهدة.

كلمات البحث: الداتورا ، السمية ، القلويدات ، جرد ، فئران

Résumé

Datura stramonium L. fait partie de la famille des Solanacées, est une plante annuelle herbacée, répandue près des cultures maraichères. La toxicité de la plante est due aux alcaloïdes atropine, scopolamine et l'hyosciamine; toutes les parties de la plante contiennent ces alcaloïdes.

L'extraction liquide-liquide des alcaloïdes totaux des graines du *Datura stramonium* L. a permis un rendement d'extraction de 0.08 g pour 80 g de graines. L'analyse qualitative de l'extrait des alcaloïdes totaux a confirmé la présence des alcaloïdes majoritaires l'atropine et la scopolamine. L'analyse qualitative et quantitative a permis de déterminer au moins la présence de l'atropine et de la scopolamine respectivement avec les taux suivants de 6 mg pour l'atropine et 2 mg pour la scopolamine 80 g des graines. L'étude de la toxicité aiguë des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. chez les rats mâles et femelles a permis de déterminer les DL₅₀, 303 mg/kg pour les rats mâles et 203 mg/kg pour les rats femelles.

L'étude de la toxicité aiguë chez les rats et souris mâles traités avec les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par voie intrapéritoniale et par simple application avec les doses de 100 mg/kg (1/3 DL₅₀) et de 60 mg/kg (1/5 DL₅₀) respectivement, ne produit pas de changements significatifs dans le comportement. Des modifications dans les masses relatives des reins et testicules chez les rats et des poumons et le cerveau chez les souris après le 5^{ème} jour du traitement. Les paramètres sériques liés à la structure et à la fonction rénale ont enregistré des augmentations significatives de l'urée et Na⁺, après le 5^{ème} jour chez les rats. Les paramètres biochimiques sériques liés à la structure et à la fonction hépatique ont montré des changements significatifs des transaminases et du glucose, après le 1^{er} et 5^{ème} jour chez les souris. Des changements histopathologiques comme la congestion sanguine des vaisseaux et des foyers de nécrose dans le foie sont observés surtout chez les souris traitées. L'étude de la toxicité subchronique chez les rats mâles traités par les alcaloïdes commerciaux avec les doses de 4.02 mg de sulfate d'atropine et 2.01 mg de scopolamine hydrochloride, pas de changement du poids corporel des rats traités pendant le traitement ; alors des changements notables de la masse relative des organes du cerveau et du foie sont observés chez les rats traités. Les résultats hématologiques montrent une baisse significative des globules rouges, d'hématocrite et d'hémoglobine. Des changements histopathologiques comme la congestion sanguine des vaisseaux et des pélioses et des foyers de nécrose sont observés. Les tests d'hémolyse sur le sang des rats et des souris montrent l'effet hémolytique des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L..

Mots-clés : *Datura stramonium* L., atropine, scopolamine, toxicité.

Abstract

Datura stramonium L. belongs to the Solanaceae family is an herbaceous annual plant, spread the market gardening answered. The toxicity of the plant is due to the alkaloids atropine, scopolamine and hyoscyamine; all parts of the plant contain these alkaloids. The liquid-liquid extraction of total alkaloids from the seeds of *Datura stramonium* L. has an extraction yield of 0.08 g to 80 g of seeds. The qualitative analysis of the extract of total alkaloids confirmed the presence of alkaloids majority atropine and scopolamine. The qualitative and quantitative analysis has identified at least the presence of atropine and scopolamine, respectively, with the following rates of 6 mg atropine and 2 mg scopolamine to 80 g of seeds. The study of acute toxicity of total alkaloids of seeds of *Datura stramonium* L. in male and female rats was used to determine the LD₅₀, 303 mg/kg for male rats and 203 mg/kg for female rats.

The acute toxicity study in rats and male mice treated with total alkaloids of seeds of *Datura stramonium* L. by intraperitoneal and simple application with a dose of 100 mg/kg (1/3 LD₅₀) and 60 mg/kg (1/5 LD₅₀), respectively, did not produce significant changes in behavior. Changes in the relative masses of the kidneys and testes in rats, lung and brain in mice after the 5th day of treatment. Serum biochemical parameters related to the structure and liver function showed significant changes in transaminases and glucose after the 1st and 5th day in mice. The serum parameters related to the structure and function has recorded significant increases in urea and Na⁺ after the 5th day in rats.

Histopathological changes such as congestion of blood vessels and foci of necrosis in the liver are mainly observed in mice treated.

The subchronic toxicity study in male rats treated with the alkaloids with the doses of 4.02 mg of atropine sulfate and 2.01 mg of scopolamine hydrochloride, no change in body weight of rats during treatment, whereas significant changes in the relative masses of the brain and liver were observed in treated rats. The hematology results showed a significant decrease in red blood cells, hematocrit and hemoglobin. Histopathological changes such as congestion of blood vessels and peliosis and foci of necrosis are observed. Hemolysis tests on the blood of rats and mice show the hemolytic effect of total alkaloids of *Datura stramonium* L. seeds.

Keywords: *Datura stramonium* L., atropine, scopolamine, toxicity.

Liste des Figure

Figure.1 Vue d'ensemble de la voie biosynthétique d'alcaloïdes tropaniques et de la catalyse enzymatique	8
Figure.2 La structure de la molécule d'Atropine	10
Figure.3 Représentation schématique des diverses composantes du système nerveux et qui sont affectés.....	12
Figure.4 Effets indésirables en fonction de la dose d'atropine	15
Figure.5 La structure de Scopolamine et l'Hyosciamine.....	16
Figure.6 Structure du rein	20
Figure.7 Structure du néphron.....	21
Figure.8 Disposition schématique du glomérule rénal	22
Figure.9 Les quatre lobes principaux du foie.....	26
Figure.10 Les différentes cellules hépatiques.....	26
Figure.11 Plante de <i>Datura stramonium</i> L. avec feuilles, fleurs et fruits.....	30
Figure.12 Fruit et graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	31
Figure.13 Extracteur de Soxhlet utilisé.....	33
Figure.14 Extraction des alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	34
Figure.15 Séparation par chromatographie sur couche mince des alcaloïdes tropaniques majoritaires (atropine et scopolamine) des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	43
Figure.16 Chromatographie en HPLC de scopolamine hydrochloride et sulfate d'atropine.....	44
Figure.17 Chromatogramme en HPLC des alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	45
Figure.18 Courbe d'étalonnage de sulfate d'atropine.....	45
Figure.19 Courbe d'étalonnage de scopolamine hydrochloride.....	46
Figure.20 Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (urée, glucose) des rats témoins et traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L. par simple application et par voie IP.....	48

Figure.21 Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (Na⁺, K⁺) des rats témoins et traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP.....48

Figure.22 Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (Créatinine) des rats témoins et traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP.....49

Figure.23 Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (TGO, TGP et PAL) des rats témoins et traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP.....49

Figure.24 Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (Glu et Créatinine) des souris témoins et traités avec la dose de 60 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP.....52

Figure.25 Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (TGO et TGP) des souris témoins et traités avec la dose de 60 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP.....52

Figure.26 Evolution du poids corpusculaire des rats mâles témoins et traités par la dose de 4.02 mg/ kg de sulfate d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride par simple application et par voie IP pour 30 jours.....54

Figure.27 Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (TGO, TGP et PAL) des rats témoins et traités avec la dose de 4.02 mg/ kg de sulfate d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride par simple application et par voie IP.....55

Figure.28 Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (Glu, Créatinine et Urée) des rats témoins et traités avec la dose de 4.02 mg/ kg de sulfate d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride par simple application et par voie IP.....56

Figure.29 Coupe histologique du tissu rénal des rats mâles témoins dans les conditions de la toxicité subchronique. Coloration éosine hématoxyline/Grossissement X 460.....56

Figure.30 Coupe histologique du tissu des rats traités dans les conditions de la toxicité subchronique. Coloration éosine hématoxyline/ Grossissement X460 /Flèche :(C) Congestion.....57

Figure.31 Coupe histologique du tissu hépatique des rats mâles témoins dans les conditions de la toxicité subchronique. Coloration éosine hématoxyline/Grossissement X 460.....	57
Figure.32 Coupe histologique du tissu hépatique des rats traités par les alcaloïdes commerciaux dans les conditions de la toxicité subchronique. Coloration éosine hématoxyline, X 460. (P) Péliose.....	57
Figure.33 Pourcentages des érythrocytes (restants) des rats femelles après traitement par les alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	58
Figure.34 Pourcentages des érythrocytes (restants) des souris mâles incubées avec les alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	59
Figure.35 Pourcentages des érythrocytes (restants) des souris mâles incubées avec les alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L. après 5 min.....	59
Figure.36 Pourcentages des érythrocytes (restants) des souris femelles après traitement par les alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L.....	60

Liste des Tableaux

- Tableau 1.** Taux de l'atropine et la scopolamine des différentes parties de la plante de *Datura stramonium* L. quantifiés par GC/ SM.....9
- Tableau 2.** Les récepteurs muscariniques.....11
- Tableau 3.** Masses relatives des organes des rats mâles traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L., par simple application et par voie IP et sacrifiés après 24 heures47
- Tableau 4.** Masses relatives des organes des rats mâles traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L., par simple application et par voie IP et sacrifiés après 5 jours.....47
- Tableau 5.** Paramètres hématologiques des rats blancs mâles témoins et traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP et sacrifiés après 24 heures et 5 jours.....50
- Tableau 6.** Masses relatives des organes des souris mâles témoins et traités avec la dose de 60 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L., par simple application et par voie IP et sacrifiés après 1^{ier} et 5^{ème} jours.....51
- Tableau 7.** Paramètres hématologiques des souris mâles témoins et traités avec la dose de 60mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP et sacrifiés après 24 heures et 5 jours.....53
- Tableau 8.** Masse relatives des organes des rats mâles témoins et traités par les alcaloïdes commerciaux avec la dose 4.02 mg/ kg de sulfate d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride par simple application et par voie IP pour 30 jours.....54
- Tableau 9.** Etudes des paramètres hématologiques des rats témoins et traités avec la dose 4.02 mg/ kg de sulfate d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride par simple application et par voie IP pour 30 jours.....55
-

Sommaire

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.La plante: <i>Datura stramonium</i> L.....	3
1-1-1 Historique.....	3
1-1-2 Position dans la systématique.....	3
1-1-3 Noms vernaculaires.....	4
1-1-4 Description botanique	4
1-1-5 Origine et répartition géographique.....	6
1-1-6 Variétés ornementales.....	6
1-1-7 Biotope.....	6
1-1-8 Période de floraison.....	7
1-1-9 Parties toxiques de la plante.....	7
1-1-10 Médecine traditionnelle et connaissance indigène.....	7
I.2.Principe toxique	7
1-2-1 La biosynthèse des alcaloïdes tropaniques	7
1-2-2 Distribution des alcaloïdes.....	10
1-2-3 Atropine.....	10
1-2-3-1 Propriétés physico-chimiques.....	10
1-2-3-2 Mode d'action de l'atropine.....	10
1-2-3-3 Pharmacocinétique.....	10
1-2-3-4 Effets pharmacologiques.....	12
1-2-3-5 Effets indésirables et risques.....	15
1-2-3-6 Doses toxiques chez l'homme.....	15
1-2-4 La scopolamine.....	16
1-2-4-1 Propriétés physico-chimiques.....	16
1-2-4-2 Mode d'action.....	16
1-2-4-3 Pharmacocinétique.....	17
1-2-4-4 Effets pharmacologiques.....	17

1-2-4-5 Doses toxiques.....	17
I.3.Toxicologie.....	17
1-3-1Circonstance de l'intoxication.....	17
1-3-2 Signes cliniques.....	18
1-3-3 Signes para-cliniques.....	18
1-3-4 Evolution de l'intoxication.....	19
1-3-5 Lésions suite à l'intoxication.....	19
1-3-6 Diagnostiques.....	19
1-3-7 Traitement.....	19
I.4.Les reins.....	20
1-4-1 Anatomie et physiologie.....	20
1-4-1-1 Le néphron	20
1-4-1-1-1 Le glomérule.....	21
1-4-1-1-2 Le tubule.....	22
1-4-2 Rôles physiologiques.....	22
1-4-2-1 Fonction des différents segments du néphron.....	22
1-4-2-2 Réabsorption et sécrétion rénale de certaines substances.....	24
1-4-2-3 Fonction endocrine du rein.....	24
1-4-3-4 Hormones et fonction rénale	24
1-4-3 Marqueurs biochimiques de la fonction rénale.....	24
I.5. Le foie	25
1-5-1 Anatomie et physiologie.....	25
1-5-2 Marqueurs enzymatiques du Foie.....	27
1-5-3 Fonctions Hépatiques.....	27
1-5-3-1 Fonction métabolique.....	27
1-5-3-2 Fonction d'élimination.....	28
1-5-3-3 Fonction exocrine	28
I.6. L'Hémolyse	28

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

II.1 Matériels et Méthodes	30
2-1-1 Matériel biologique.....	30
2-1-1-1 Matériel végétal.....	30
2-1-1-1-1 Analyse phytochimique.....	31
2-1-1-1-1-1 Extraction des alcaloïdes totaux.....	31
2-1-1-1-1-2 Analyse qualitative des alcaloïdes totaux	35
2-1-1-1-1-2-1 Chromatographie sur couche mince (C.C.M).....	35
2-1-1-1-1-3 Analyse qualitative et quantitative par HPLC.....	35
2-1-1-2 Matériel animale.....	36
2-1-1-2-3 Détermination de la DL ₅₀ chez les rats mâles et femelles	36
2-1-1-2-1 Toxicité aiguë chez les rats mâles.....	37
2-1-1-2-2 Toxicité aiguë chez les souris mâles.....	38
2-1-1-2-4 Toxicité subchronique.....	39
2-1-1-2-5 Etude de quelques paramètres hématologiques et biochimiques sériques.....	39
2-1-1-2-6 Technique histologique.....	40
2-1-1-2-7 Traitements des érythrocytes par les alcaloïdes totaux des graines de <i>Datura stramonium</i> L. (<i>in vitro</i>).....	40
2-1-2 Analyses statistiques.....	41

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

3-1 Résultats	43
3-1-1 Extraction.....	43
3-1-2 Analyse qualitative.....	43
3-1-2-1 chromatographies sur couche mince CCM des alcaloïdes totaux	43
3-1-2-2 Chromatographie liquide de haute performance des alcaloïdes totaux	44
3-1-2-2-1 La courbe d'étalonnage	45
3-1-3 - Estimation de la DL ₅₀ par méthode de Bahrens.....	46

3-1-4- Etude de la toxicité aigüe.....	47
3-1-4-1 Toxicité aigüe chez les rats mâles (<i>Wistar albinos</i>).....	47
3-1-4-1-1 Etudes des paramètres biochimiques	48
3-1-4-1-2 Etudes des paramètres hématologiques.....	50
3-1-4-1-4 Etudes histologiques.....	50
3-1-4-2- Toxicité aigüe chez les souris mâles (<i>Mus musculus</i>).....	51
3-1-4-2-1 Etudes des paramètres biochimiques	51
3-1-4-2-2 Etudes des paramètres hématologiques.....	52
3-1-4-2-3 Etudes histologiques	53
3-1-5- Toxicité subchronique chez les rats mâles (<i>Wistar albinos</i>)	53
3-1-5-1- Evaluation du Poids des rats mâles.....	53
3-1-5-3- Etudes des paramètres hématologiques	54
3-1-5-4- Etudes des paramètres Biochimiques.....	55
3-1-5-5- Etudes histologiques.....	56
3-1-6 Etude de l'effet hémolytique des alcaloïdes totaux de <i>Datura stramonium</i> L in vitro	58
3-1-6-1 Sur les érythrocytes des rats femelles.....	58
3-1-6-2 Sur les érythrocytes des souris mâles.....	58
3-1-6-3 Sur les érythrocytes des souris femelles.....	59
3-2 Discussions	61
Conclusions	66
Références bibliographiques	68

Introduction

L'usage des plantes à des fins thérapeutiques (médecine populaire) ou narcotiques et leurs ingestion accidentelle ou par confusion avec d'autres plantes comestibles, déterminent des accidents fréquents dans le monde (Fourasté, 2000). Parmi les plantes toxiques qui pousse à l'état sauvage, le *Datura stramonium* et qu'on rencontre fréquemment aux abords des cultures maraîchères (Palmarev *et al.*, 1989).

Plus connu en Algérie sous le nom de SIKRANE (à ne pas confondre avec d'autres plantes portant la même appellation comme *Hyosciamus niger*, le *Datura stramonium* est la cause de plusieurs intoxications, surtout dans les régions rurales. Ces intoxications surviennent en période estivale (période de la floraison et de fructification) et touchent généralement les enfants de bas âge (Bouzidi *et al.*, 2002). L'intoxication volontaire touche l'adolescent ou l'adulte jeune avec une nette prédominance masculine (Mathias, 2006; Birmes *et al.*, 2002; Djibo et Bouzou, 2000; Desachy *et al.*, 1997; Klein-Schwartz et Odera, 1984).

L'effet toxique du *Datura stramonium* est attribué à trois alcaloïdes tropaniques : L'atropine et son isomère optique l'hyosciamine, et la scopolamine.

Toutes les parties de la plante renferment ces alcaloïdes et sont donc potentiellement dangereuses.

Le tableau clinique des personnes intoxiquées par cette plante, est dominé par les troubles du comportement : hallucinations visuelles, auditives, tactiles, désorientation temporo-spatiale, agitation motrice, rougeur de la face, une mydriase, le délire, des tachycardies, hyperthermie (Chan, 2002). Dans les cas les plus graves, on peut observer des convulsions, une détresse respiratoire et le coma (Monteriol *et al.*, 2007 ; Lapostolle et Flesh, 2006).

La gravité des intoxications semble plus due aux troubles du comportement induits par celles-ci qu'à la toxicité propre du *Datura stramonium* surtout à faible dose (Monteriol *et al.*, 2007, Aroukou *et al.*, 2003).

D'une façon générale, on ne dispose que peu de données toxicologiques sur l'expérimentation du *Datura stramonium*. L'ensemble des données sur le *Datura* concerne beaucoup plus les cas cliniques des personnes qui se sont intoxiquées accidentellement ou volontairement par le *Datura stramonium*.

CHAPITRE I
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUES

1-1 La plante : *Datura stramonium* L

1-1-1 Historique :

En 1666, près de la ville de Jamestown en Virginie, des soldats furent intoxiqués en masse après avoir consommé plusieurs plantes de *Datura stramonium* en guise de repas. Cet événement est à l'origine du nom "Jimson weed" utilisé pour désigner le *Datura* et qui vient de la contraction de "Jamestown" et "weed". Pour les contrôler, on les emprisonna et ils ne furent libérés qu'après onze jours.

Le vieux nom générique pour ce genre est stramonium, le mot est pensé pour être de Struma ce qui signifie quelque chose gonflé (Hall *et al.*, 2009 ; Senécal, 1998).

1-1-2 Position dans la systématique :

Règne : Planta (Benoit, 2010)

Embranchement : Spermatophyta.

Sous-embranchement : Magnoliophyta.

Super-classe : Tricolpées.

Classe : Magnoliopsida.

Sous-classe : Asteridae.

Super-ordre : Euasteridées (Lonchamp, 2000).

Ordre : Solanales (Julve, 1998)

Famille : Solanacées (Ahmed *et al.*, 2009 ; Lazzarini *et al.*, 2006 ; Lonchamp, 2000)

Genre : *Datura* (Benoit, 2010)

Espèce : *Datura stramonium* (Hall *et al.*, 2009).

1-1-3 Noms vernaculaires

- ✿ **Arabe:** Dhatura (Hall *et al.*, 2009), Nafir, Taturah (Hammouda *et al.*, 2005), sikran, chdeg-eljmel (Hmamouchi, 1989).
- ✿ **Berber:** Tabourzigt, Tidilla (Hammouda *et al.*, 2005)
- ✿ **Anglais:** Thornapple (Benoit, 2010 ; Ahmed *et al.*, 2009 ; Levitt et Lovett, 1984), Devil's apple (Hammouda *et al.*, 2005), Jimson Weed (Ahmed *et al.*, 2009 ; Hall *et al.*, 2009 ; Tursunova *et al.*, 1976) Locoweed, Stinkweed, mad apple (Jouve, 2009), Apple of Peru (Artaud et Langdon, 1977).
- ✿ **Français:** Datura, Stramoine, Pomme épineuse (Benoit, 2010 ; Bruneton, 2001), herbe aux sorcières, Dature, Sobi-lobi, Endormie, herbe aux sorciers, herbe aux taupes (Jouve, 2009), Pomme du diable, Herbe à fou, Pomme du Pérou, Herbe au Diable, Herbe à la taupe (Lonchamp, 2000).

1-1-4 Description botanique :

- **Général :** *Datura stramonium* est une plante annuelle herbacée, pousse librement jusqu'à plus de un mètre de haut, dans les sols riches, généralement glabre, avec une odeur désagréable au froissement. (Geeta et Gharaibeh, 2007 ; Boris, 2001 ; Aliasgharpour *et al.*, 2000., Mirzamatov *et al.*, 1972).
- **Racines :** Moins développées, épaisses et de couleur blanchâtre, dégageant beaucoup de fibres (Jouve, 2009 ; Boris, 2001)
- **Tige :** plus développée, de couleur verdâtre, ronde, lisse et avec des ramifications dichotomiques (Hall *et al.*, 2009).
- **Feuilles:** sont grandes et angulaires, inégales à la base ou alterne, plus ou moins ovales, irrégulières sinuées-dentées, à dents acuminées, avec une couleur vert foncée, plus ou moins brillantes à la face supérieur, plus claires et avec des nervures saillantes en dessous, de 7-20 cm de long et de 6-15 cm de large (Marwat *et al.*, 2005 ; Boris, 2001 ; Lonchamp, 2000 ; Shu, 1994).
- **Fleurs :** blanches ou violacées, ayant une forme d'entonnoir allongées de 6-10 cm, solitaires à l'aicelle des feuilles supérieures, avec des corolles pliées et seulement à moitié ouvert, avec six nervures en avant tubuleuse et à 5 lobes acuminé, préfloraison et tordue avec une calice qui attend de 3-5 cm de diamètre, on distingue 5 sépales plissés, tubuleux d'un vert pale, à lobe lancéolés dentés (Marwat *et al.*, 2005 ; Aliasgharpour *et al.*, 2000).

- **Fruit et graines** : capsule dressée de forme ovoïde, d'une couleur verte et couverte de nombreux épines, quand elle est mure, la capsule s'ouvre au sommet par 4 valves, laissant une longue centrale structure, pouvant contenir jusqu'à 500 graines. Les graines sont rugueuses, piquées sur la surface et de couleur brune foncée, plates et réniformes de 2-4 mm de long et 1,5 mm de large (Marwat *et al.*, 2005 ; Artaud et Langdon, 1977).

1-1-5 Origine et répartition géographique

L'origine de stramoine serait américaine et ou d'Asie tropicale (Taiwo *et al.*, 2006 ; Bruneton, 2001). *Datura* présente dans le bassin méditerranéen, en Afrique, en Amérique, en Asie, ainsi que dans tous les secteurs tempérés et tropicaux du monde. Sa distribution est due aux voyages et à l'introduction des plantes décoratives d'origine variée (Debelmas et Delaveau, 1983).

1-1-6 Variétés ornementales

Ces variétés se présentent souvent sous forme d'arbre ou d'arbuste de 2-3 m de haut pourvus de larges feuilles molles et velues. Elles sont appréciées dans les jardins pour leurs grandes fleurs en forme de trompettes, dressés ou pendantes répondant un parfum suave et dont la couleur peut varier du blanc au rouge, en passant par le jaune ou le violet (il existe également des variétés bicolores) (Jouve, 2009).

Il existe plusieurs variétés de *datura* (plus de 10) dont les plus courantes sont *Datura stramonium*, *Datura metel*, *Datura fastuosa*, *Datura muritica*, *Datura innoxia*, *Datura meteloides Dunel*, *Datura canadia*, *Datura arborea L.*, *Datura sauveolans*, *Datura quercifolia* (Geeta et Gharaibeh, 2007 ; Jiao *et al.*, 2002).

1-1-7 Biotope

Le *Datura* est très commun et se rencontre dans les terrains vagues et friches, il est également souvent adventice des cultures maraîchère et céréalières ce qui pose problèmes de contamination des fourrages et des ensilages, il apprécie les sols riches en éléments nutritifs et en nitrates (Boris, 2001).

Les espèces arborescentes sont plantées à des fins ornementales dans les jardins publics et privés (Jouve, 2009).

1-1-8 Période de floraison

Le Datura fleurit de Juillet à Octobre ou même à Novembre (Shu, 1994).

1-1-9 Parties toxiques de la plante

Toutes les parties de la plante peuvent être utilisées, ce sont très souvent les graines qui sont ingérées, moins fréquemment ce sont les racines, les feuilles, les fleurs voire la tige (Bruneton, 2001).

Toutes les parties de la plante contiennent les alcaloïdes toxiques comme l'hyosciamine, scopolamine et atropine. En raison de leur importance pharmaceutique, ils ont été étudiés en détail par les biochimistes (Aliasgharpour *et al.*, 2000).

La quantité d'alcaloïdes contenus dans les différentes parties de la plante varie selon l'âge, le climat et le sol où elle pousse. La plante conserve sa toxicité après sa dessiccation (Jouve, 2009).

1-1-10 Médecine traditionnelle et Connaissance indigène

Depuis longtemps, les Arabes de l'Afrique centrale sont connus pour avoir séché les feuilles, fleurs et tiges. Les feuilles sont mélangées dans des cônes à certains aromatiques et avec des parties égales de nitrate de potassium, dans l'ordre pour augmenter la combustion et sont brûlés dans une soucoupe, la fumée étant inhalée et un grand soulagement est présenté (Hammouda *et al.*, 2005).

Son utilisation comme décoction dans des rituels primitifs de puberté, comme un pesticide, comme un colorant vert, comme elle est utilisée également par les prêtres pour faire la pluie et trouver de l'or (Artaud et Langdon, 1977). Elle est utilisée entre autres dans :

- La maladie de coffre.
- Un aphrodisiaque.
- Un anesthésique local.
- Traitement de pellicules (Artaud et Langdon, 1977).
- Traitement des maux de tête et des hémorroïdes (Marwat *et al.*, 2005 ; Artaud et Langdon, 1977).
- Traitement des maladies gastro-intestinales (ulcère peptique).
- Traitement de la maladie de coqueluche (pertusis).

- La racine en poudre est appliquée aux gommages pour la douleur, également utilisée pour les douleurs des dents (Marwat *et al.*, 2005).
- Les feuilles ont été utilisées comme compresse (avec de l'huile) pour la douleur rhumatismale.
- Les graines peuvent être fumées avec du tabac pour soulager l'asthme (Artaud et Langdon, 1977).

1-2 Principe toxique

Le *Datura stramonium* produit une gamme des alcaloïdes biologiquement actifs, incluant des alcaloïdes du tropane, principalement l'hyoscyamine généralement le plus abondant (Vassiliou, 2009; Quetin-Leclercq, 2002; Debelmas et Delaveau, 1983) et prédominant dans la plante à la maturité et la scopolamine (hyoscine) prédominant dans la plante jeune et seul alcaloïde présent dans la racine, l'atropine peut être formé de l'hyoscyamine par la racémisation pendant le procédé extractif (Iranbakhsh *et al.*, 2005).

1-2-1- La biosynthèse des alcaloïdes tropaniques

Dans la plante la biosynthèse des alcaloïdes est variable, elle dépend de l'espèce considérée, des conditions environnementales auxquelles l'espèce est soumise, de la période et des conditions de récolte de la plante (Baiza *et al.*, 1998; Houmani, 1994; Mirzamatov *et al.*, 1972).

La biosynthèse des alcaloïdes tropaniques est désormais l'une des mieux connues parmi celles des métabolites secondaires. Les principales voies de biosynthèse de l'hyoscyamine et de la scopolamine sont bien connues (Vu Thi, 2008; Robin *et al.*, 1991) (Fig. 1).

Le noyau tropane bicyclique est formé à partir de l'ornithine/arginine via le tropanone, tandis que le groupement acide tropique est synthétisé à partir de la phénylalanine (Alexander *et al.*, 2008).

L'hyoscyamine et la scopolamine sont issues du cycle des polyamines (arginine, ornithine, méthionine, phénylalanine), le processus de synthèse de l'hyoscyamine se fait essentiellement dans les racines par l'estérification du tropanol et de l'acide tropique, l'acide tropique est dérivé de la phénylalanine et le tropanol est issu du tropanone et de l'hygrine, une partie est ensuite transportée vers les parties aériennes et l'autre transformée en scopolamine au cours de la translocation sous l'action de l'enzyme hyoscyamine-6 β -hydroxylase (Alexander *et al.*,

2008 ;Vu Thi, 2008 ;Tadeuz, 2007 ; Vercauteren, 2007 ; Ignacio *et al.*, 1992 ; Cromwell, 1943).

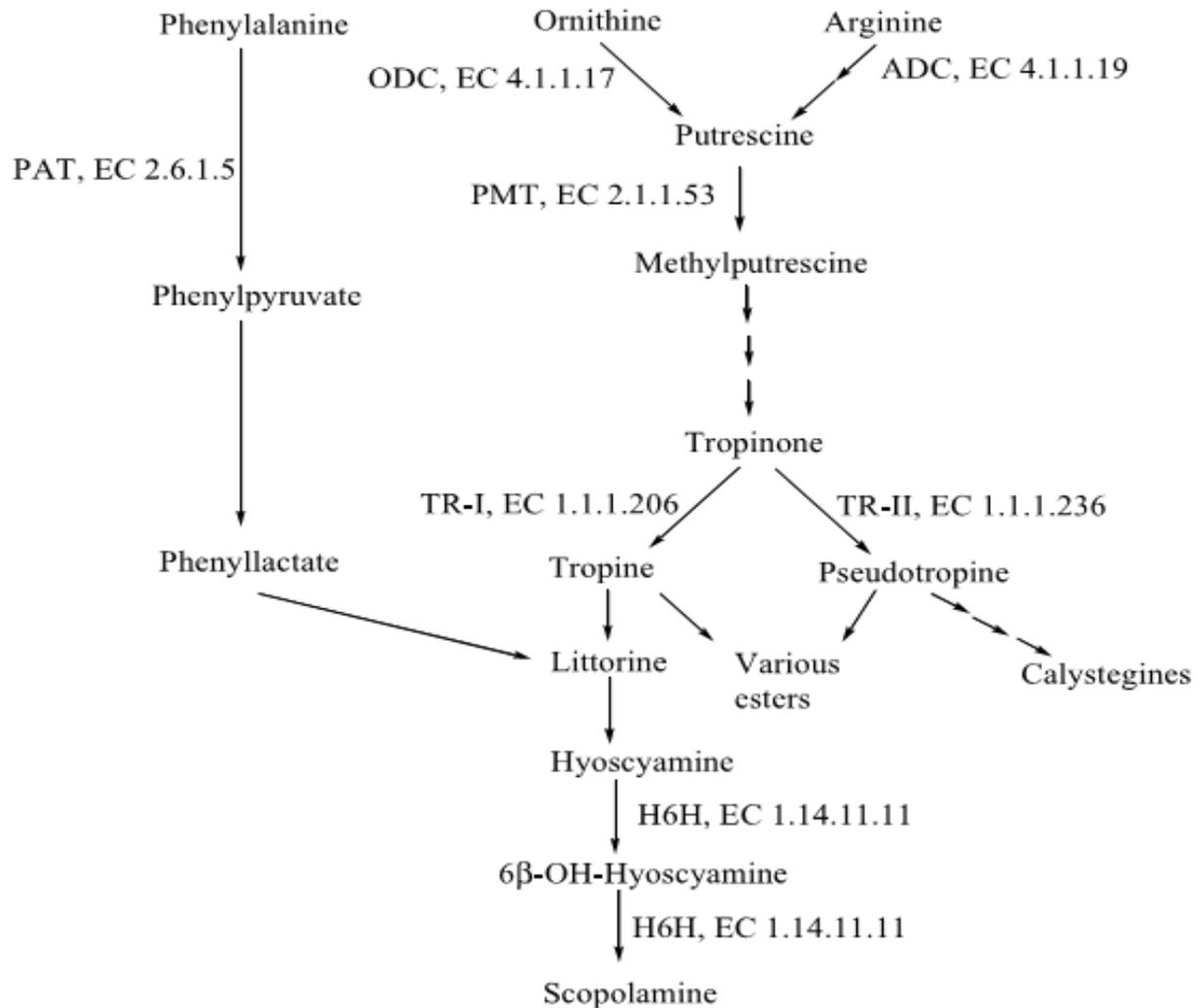


Fig1. : Vue d'ensemble de la voie biosynthétique d'alcaloïdes tropaniques et de la catalyse enzymatique (Arroo *et al.*, 2007 ; Robins *et al.*, 1991).

- ❖ CDA : Décarboxylase d'arginine.
- ❖ H6H : Hyosciamine 6 α -hydroxylase.
- ❖ ODC : Décarboxylase d'ornithine.
- ❖ PAT : Phénylalanine aminotransférase.
- ❖ PMT : Putrescine N-méthyltransférase.
- ❖ TR-I : Tropine réductase I.
- ❖ TR-II : Tropine réductase II.

1-2-2 Distribution des alcaloïdes :

La teneur en alcaloïdes se différencie d'une partie à une autre et selon les phases et les conditions de croissances, ainsi que la région (influence du sol, climat, ...) (Iranbakhsh *et al.*, 2007 ; Marwat *et al.*, 2005 ; Mirzamatov *et al.*, 1972). Le tableau 1 montre la distribution des alcaloïdes tropaniques chez *Datura stramonium*.

Tableau1 : Taux de l'atropine et la scopolamine des différentes parties de la plante de *Datura stramonium* quantifiés par GC/ SM (Iranbakhsh *et al.*, 2005).

Phase de Développement et l'organe	Atropine (%)	Scopolamine (%)	Totale (%)
Feuilles dans la phase végétative	0.037	0.090	0.127
Feuilles dans la phase générative	0.030	0.020	0.050
Pétiole dans la phase végétative	0.080	0.042	0.122
Pétiole dans la phase générative	0.062	0.020	0.082
Tige dans la phase végétative	0.070	0.023	0.093
Tige dans la phase générative	0.070	0.023	0.093
Racines dans la phase végétative	0.045	0.000	0.045
Racines dans la phase générative	0.056	0.013	0.069
Capsule	0.064	0.034	0.098
Graines	0.000	0.020	0.020

1-2-3 Atropine:

1-2-3-1 Propriétés physico-chimiques

- **Formule** : $C_{17}H_{23}NO_3$.
- **Poids moléculaire** : 287,37 daltons.
- **Etat physiologique** : sous forme de poudre blanche
- **Point de fusion** : 114-118°C (Allain, 1999).

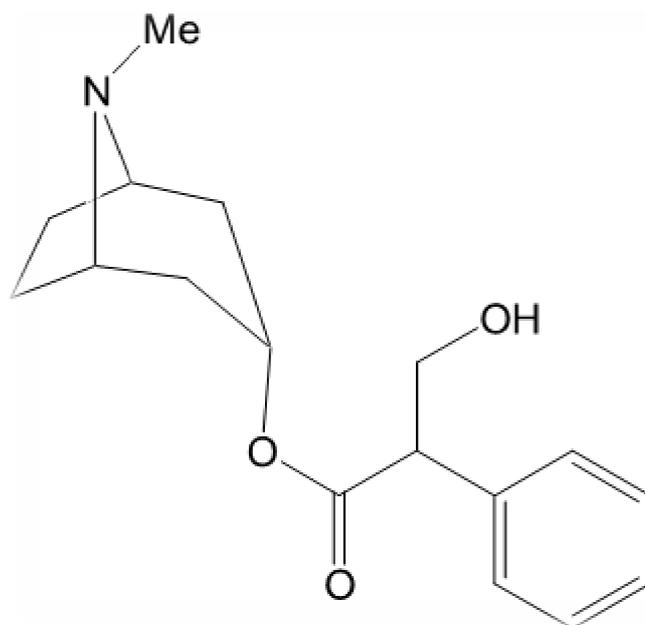


Fig2. : La structure de la molécule d'Atropine (Arroo *et al.*, 2007).

1-2-3-2 Mode d'action de l'atropine

Il y a au moins 5 sous-types des récepteurs muscariniques, désignés sous le nom de M_1 , M_2 , M_3 , M_4 , et M_5 (Chung *et al.*, 2008, Lee *et al.*, 2001). Ils négocient leurs effets par des protéines de G couplées à la phospholipase C (M_1 , M_3 et M_5) (Dangoumau *et al.*, 2006 ;Robertson, 2005), ou aux canaux de potassium (M_2 et M_4) (Robertson, 2005) (Tab.2).

Tableau 2 : Les récepteurs muscariniques (Dangoumau *et al.*, 2006).

Types	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅
	Type 2 : Protéines G				
	Gs	Gi	Gs	Gi	Gs
Couplage	Phospholipase ↑	Adénylcyclase ↓	Phospholipase ↑	Adénylcyclase ↓	Phospholipase ↑
	IP ₃ ↑	AMPc ↓	IP ₃ ↑	AMPc ↓	IP _И ↑
Mécanisme	Postesynaptique Canaux K ⁺ ↓ Dépolarisation excitation	Présynaptique Canaux K ⁺ ↑ Ca ⁺⁺ ↓ Hyperpolarisation Inhibition	Postesynaptique Canaux Ca ⁺⁺ ↓ Excitation		
Localisation	SNC Sécrétion gastrique Ganglion végétatif	Cœur	Sécrétion glandulaire Muscle lisse viscéral ----- Muscle lisse vasculaire : libération de NO (inhibiteur)	Orphelins Pharmacologiques	

L'atropine bloque les effets de l'acétylcholine aux récepteurs muscariniques (Abbara, 2009), ses effets sont dépendants de la dose (Villiers, 2009 ; Jaffary, 2004 ; Clair *et al.*, 2004, Liaquat et Akhtar, 2004 ; Redlener *et al.*, 2004).

Toutes les substances avec les propriétés anticholinergiques sont compétitives avec l'acétylcholine aux niveaux des récepteurs muscariniques type 3. Ceci se produit

principalement dans le système nerveux périphérique (Jaffary, 2004 ; Quetin-Leclercq, 2002, Saissy et Ruttimann, 1999) (exemple : cœur, glandes salivaires, glandes de sueur, appareil gastro-intestinal), des récepteurs muscariniques postganglioniques parasymphatiques et anticholinergiques. Les substances concurrencent d'une façon minimum l'acétylcholine sur d'autres emplacements (par exemple, ganglion autonome) (Fig.3)

L'action du système cortical central lie aux récepteurs muscariniques su-cortical type 4; l'évaluation des symptômes est liée à la capacité de la drogue de passer la barrière hématoméningée (Cretton, 2009 ; Alexander *et al.*, 2008 ; Lazzarini *et al.*, 2006 ; Iranbakhsh, 2005).

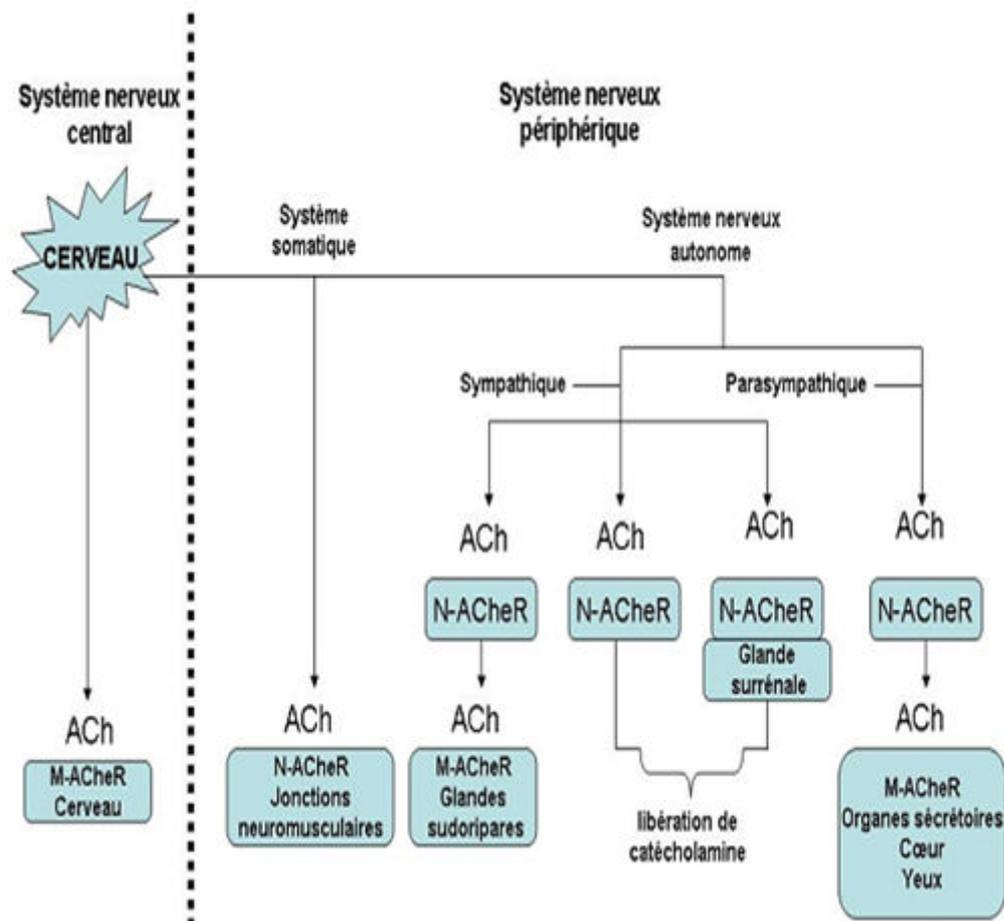


Fig.3 : Représentation schématique des diverses composantes du système nerveux et qui sont affectés par les anticholinergiques (Samuel *et al.*, 2007).

1-2-3-3 Pharmacocinétique

➤ Résorption

L'atropine est rapidement absorbée par voie digestive et l'on ne recourt à son administration par voie parentérale que lorsqu'on veut obtenir un effet très rapide, par exemple dans le

traitement des coliques, mais de façon générale l'atropine a une bonne résorption quel que soit la voie d'administration (Allain, 2004 ; Stéphane, 2002).

➤ **Diffusion**

Diffusion rapide dans tous l'organisme, diffusion cérébrale car elle franchit aisément la barrière hémato-encéphalique (Stéphane, 2002).

➤ **Demi-vie**

Sa demi-vie terminale d'élimination est de 3:30-4 h, après administration de la dose de 0,5 mg et elle est raccourcie 2,34 et 1,62 h après administration de 2 et 4 mg (Abbara, 2009).

La durée d'action de l'atropine administrée par voie générale serait d'environ six heures (Allain, 2004).

➤ **Métabolisation-excrétion**

Elle est métabolisée dans le foie et est éliminée sous forme inchangée (15-57%) et son principal métabolite excrété dans les urines (la tropine) représente environ 30% de la dose administrée (Abbara, 2009 ; Stéphane, 2002 ; Allain, 1999).

Une partie de l'atropine appliquée sous forme de collyre, est susceptible de diffuser dans la circulation générale, elle traverse la barrière placentaire et des traces d'atropine peuvent être retrouvées dans diverses sécrétions (Allain, 2004).

Elle peut persister pendant une période prolongée dans l'organisme (Stéphane, 2002).

1-2-3-4 Effets pharmacologiques

❖ **Action cardiovasculaire**

L'effet de l'atropine se traduit par modification du rythme cardiaque :

- A dose faible : un ralentissement par stimulation du centre cardio-modérateur (Villiers, 2009 ; Allain, 2004 ; Ajibola, 2000).
- A dose thérapeutique : une tachycardie sinusale (Laurent *et al.*, 2008 ; Liaquat et Akhtar, 2004), cet effet est médié par un blocage du récepteur muscarinique M₂ (Stéphane, 2002) qui conduit à supprimer le tonus vagal (Allain, 2004 ; Jaffary, 2004).

❖ **Action vasculaire**

L'atropine n'as pas d'effet vasculaire, mais elle s'oppose à la vasodilatation provoquée par injection intraveineuse d'acétylcholine (Allain, 2004).

❖ **Action sur la pression artérielle**

Une chute de la pression artérielle par dépression des centres vasomoteurs et par vasodilatation cutanée (Villiers, 2009 ; Allain, 2004).

❖ **Action sur l'œil**

Dilatation de la pupille par mydriase (Arroo *et al.*, 2007 ; Jaffary, 2004 ; Ajibola, 2000) avec augmentation du diamètre de l'Iris ce qui donne une tendance à l'augmentation de la pression intraoculaire.

On remarque que la dilatation peut persister plusieurs jours (Allain, 2004).

❖ **Action sur les muscles lisses**

L'atropine relâche les muscles lisses, elle a une action antispasmodique (Alexander *et al.*, 2008 ; Arroo *et al.*, 2007 ; Ajibola, 2000).

❖ **Action gastro-intestinale**

❖ **Sur le tube digestif**

Diminution du tonus, une diminution de l'amplitude et de la fréquence des contractions péristaltiques, elle s'oppose à l'hypertonie produite par la morphine, ce qui justifie son association à la morphine dans le traitement des coliques (Allain, 2004).

L'atropine est utilisée en pré-anesthésie pour réduire le réflexe vagal consécutif aux manipulations viscérales (Stéphan, 2002 ; Ajibola, 2000).

Utilisation de l'atropine dans les ulcères, dans les diarrhées avec hyper-péristaltisme (Stéphan, 2002).

❖ **Sur les intestins**

L'atropine donne une réduction du tonus et du péristaltisme et supprime la contracture provoquée par l'acétylcholine (Allain, 2004).

❖ **Sur les voies biliaires**

L'atropine a aussi une action antispasmodique (Allain, 2004).

❖ **Sur les voies urinaires**

L'atropine dilate les uretères (Ajibola, 2000). L'atropine induit un relâchement de la paroi vésicale mais une contraction du sphincter de la vessie d'où obstacle à l'élimination urinaire (Stéphan, 2002).

❖ L'atropine n'a pas pratiquement d'effet sur l'utérus.

❖ **Action sur les sécrétions**

Sécrétion Digestive

Sécheresse buccale (Jouve, 2009), réductions des sécrétions gastrique (Jaffary, 2004) ce qui explique l'usage de l'atropine dans la thérapie comme antisécrétoire (Action antispasmodique) (Laurent *et al.*, 2008).

➤ **Sécrétion Bronchique**

La sécrétion bronchique est réduite (Jaffary, 2004) et une broncho-dilatation (Alexander *et al.*, 2008 ; Arroo *et al.*, 2007) médiée par les récepteurs muscariniques M₃ d'où son utilisation dans le traitement de l'asthme (Abbara, 2009 ; Stéphan, 2002 ; Saissy et Ruttimann, 1999).

➤ **Sécrétion Cutanée**

Elle inhibe la sécrétion, ce qui donne une peau sèche et chaude (Laurent *et al.*, 2008).

➤ **Sécrétion lacrymale et lactée**

La sécrétion lacrymale est réduite, tandis que la sécrétion lactée lors de l'allaitement n'est que peu ou pas modifiée (Allain, 2004).

➤ **Action sur le système nerveux central**

L'atropine a été pendant longtemps le seul médicament à avoir une efficacité dans la maladie de Parkinson (Stéphan, 2002).

Elle a une action dépressive, hypnotique et amnésiante qui entraîne à forte dose des troubles de la locomotion ainsi que des troubles de l'élocution et une diminution de la faculté intellectuelle chez l'homme (Arroo *et al.*, 2007).

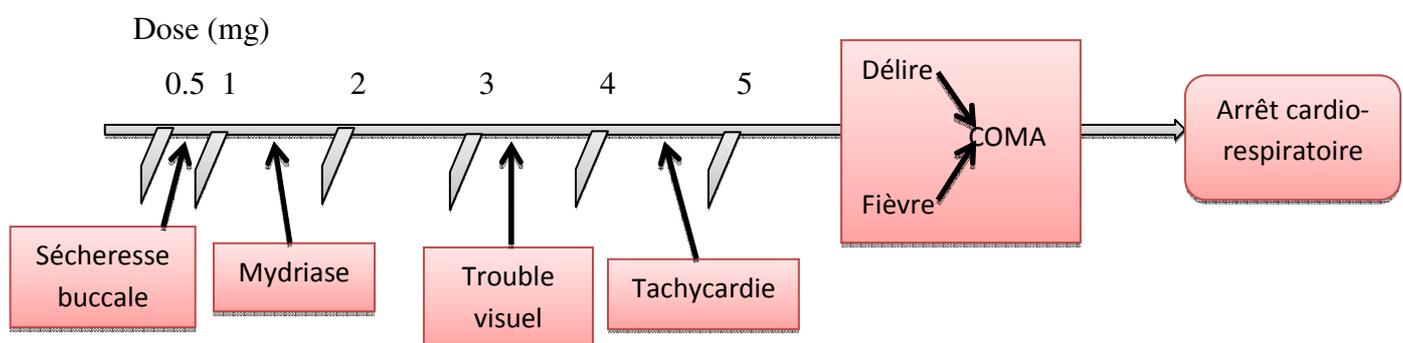
Les principes toxiques du datura n'auraient par contre pas de pouvoir tératogène (Alexander *et al.*, 2008).

1-2-3-5 Effets indésirables et risques

- **Effets périphériques**: troubles d'accommodation (Saissy et Ruttimann, 1999), sécheresse buccale, tachycardie (Villiers, 2009), constipation, trouble mictionnel.
- **Effets centraux** : syndrome confusionnel et agitation, favorisé par le surdosage, interaction médicamenteuse ou terrain fragilisé (âge). Marge thérapeutique étroite.
- **Interaction médicamenteuse**: additivité des effets indésirables et risque de toxicité avec toutes autres substances ayant des propriétés atropiniques (Saissy et Ruttimann, 1999).

1-2-3-6 Doses toxiques chez l'homme

Elle est toxique à 5 mg (Seanet *et al.*, 2006), la dose létale est supérieure ou égale à 10 mg pour un homme adulte (Garnier *et al.*, 2010 ; Shordert *et al.*, 1992) (Fig.4).



*

Fig4. Effets indésirables en fonction de la dose d'atropine (Lambert *et al.*, 2002).

1-2- 4 Scopolamine

1-2-4-1 Propriétés physico-chimiques

- **Formule** : C₁₇H₂₁NO₄
- **Poids moléculaire** : 303.356 Daltons.
- **Point de fusion** : 112°C.
- **Etat physiologique** : se présente sous forme poudre blanche, basique dont les sels sont hydrosolubles, sa saveur est amer et désagréable (Allain, 1999) (Fig.5).

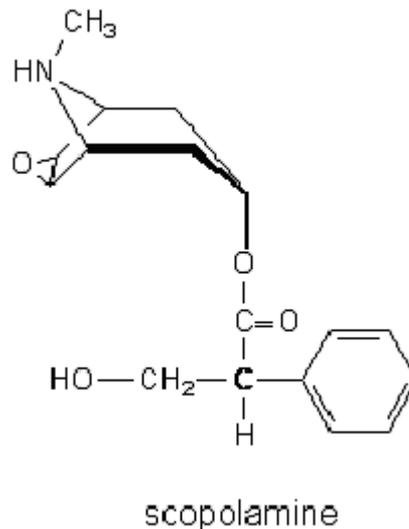


Fig.5 : La structure de Scopolamine (Alexander *et al.*, 2008).

1-2-4-2 Mode d'action

La scopolamine est un anticholinergique dans le système nerveux central et périphérique (Paul, 2007 ; Mud, 2005).

1-2-4-3 Pharmacocinétique

- **Absorption** : la scopolamine est bien absorbée au niveau local (œil et peau), on trouve aussi qu'elle est mieux résorbée au niveau du tube digestif.
- **Élimination** : L'élimination de la scopolamine se fait par voie rénale, on trouve dans les urines 50% de la dose administrée après 8 heures (Vidal, 1996).
- **Demi-vie** : environ 8 heures (Hayman, 1985).

1-2-4-4 Effets pharmacologiques

La scopolamine a également des effets parasympatholytiques, mais ils sont moins marqués (Alexander *et al.*, 2008 ; Arroo *et al.*, 2007).

La scopolamine peut provoquer aux doses normales des signes centraux, troubles de la mémoire, somnolence. Ce surcroît d'effet central par rapport à l'atropine est expliqué par un franchissement plus aisé de la barrière hémato-encéphalique.

La scopolamine est utilisée dans la prévention du mal des transports (Stéphan, 2002).

1-2-4-5 Dose toxique

La scopolamine est toxique à dose de 4 mg, sa dose létale est supérieure à 4 mg (Henri *et al.*, 2003).

1-3-Toxicologie

Toutes les parties du *Datura stramonium* sont toxiques et la plante dégage une forte odeur âcre repoussante qui rappelle celle des plantes de tabac (d'où l'appellation anglaise de "stinkweed"). Les composés anticholinergiques sont en concentrations supérieures dans les graines. La simple manutention d'une plante de *Datura*, peut s'accompagner de mydriase, particulièrement si la personne se touche l'œil. Ce phénomène réversible se produit à l'occasion chez les jardiniers ou les fermiers (Bruneton, 2001).

1-3-1 Circonstance de l'intoxication

- **Intoxication involontaire**

Souvent l'intoxication est accidentelle par consommation d'aliments préparés avec des farines contaminées, par les graines ou de miel élaboré par des abeilles butinant des *Datura* (Bruneton, 2001), bien que l'exposition est parfois involontaire par des jardiniers ou des fermiers (Lazzarini *et al.*, 2006).

- **Intoxication volontaire**

Le *Datura* est parfois mélangé à du tabac et fumer comme des cigarettes (Bruneton, 2001). Certains jeunes la consomment pour vivre une expérience de toxicomanie. La présence de *Datura* dans l'environnement périurbain, est en fait une drogue facilement accessible et

gratuite et l'absence de législation reconnaissant le Datura comme drogue contribue à vulgariser et à banaliser sa consommation (Djibo et Bouzou, 2000).

1-3-2 Signes cliniques

Quelques heures après l'ingestion, on peut observer :

1-3-2-1 Des signes généraux

Diminution voir une absence des sécrétions sudorales, aboutissant à une sécheresse de la peau (Klein-Schwartz et Odera, 1984), abattement, hyperthermie puis hypothermie (Jouve, 2009).

1-3-2-2 Des signes digestifs

Des signes digestifs précoces sont souvent observés en cas d'intoxication légère : anorexie, pyalisme, colique, diarrhée, sécheresse buccale, nausée voir des vomissements pour certain (Djibo et Bouzou, 2000).

1-3-2-3 Des signes nerveux

Somnolence, agitation, confusion avec hallucinations (Artaud et Langdon, 1977) ataxie, tremblement, hyperréflexie avec signe de BABINSKI bilatéral, crises de décérébration et coma dans la phase terminale (Lazzarini *et al.*, 2006).

1-3-2-4 Des signes cardio-vasculaires

Les signes cardiaques sont tardifs ou lors des intoxications graves : tachycardie, arythmie, pouls d'abord lent et fort puis rapide, irrégulier et filant, extrémités froides, hypertension, un collapsus cardio-vasculaire est possible au cours des intoxications massives (Jaffary, 2004).

1-3-2-5 Des signes respiratoires : dyspnée (Jouve, 2009).

1-3-2-6 Des signes oculaires : mydriase, flou visuel (Allen et Smith, 2007).

1-3-2-7 Des signes urinaires

Une rétention urinaire, une dysurie et des urines foncées (albuminurie et hématurie) sont signalées (Ajibola, 2000).

1-3-3 Signes para-cliniques

Une albuminurie et une hématurie sont remarquable (Ajibola, 2000).

On peut noter une légère anémie normochrome et normocytaire, une hypomagnésémie et une augmentation des transaminases (Jouve, 2009).

1-3-4 Evolution de l'intoxication

L'intoxication évolue général sur plusieurs jours et la convalescence est longue, la mort est possible par arrêt cardiaque (Jouve, 2009).

1-3-5 Lésions suite à l'intoxication

On peut observer :

- Une congestion généralisée.
- Une dégénérescence rénale et hépatique.
- Un œdème pulmonaire.
- Des hémorragies liées à l'agonie sont fréquemment observée au niveau de cœur, des séreuses et des muqueuses.
- Une dilatation des oreillettes (avec parfois une nécrose) et une contraction des ventricules.
- Une entérite légère ou modérée (Jouve, 2009).

1-3-6 Diagnostique

1-3-6-1 Diagnostiques différentiels

Il prendra en compte l'intoxication ou l'affection responsable de troubles digestives, nerveux et cardiaques (Jouve, 2009).

1-3-6-2 Diagnostique expérimental

On pourra procéder à l'examen macroscopique voir microscopique du contenu ruminal.

On peut également doser les hétérosides cardiotoniques dans le sérum ou différents tissus par chromatographie sur couche mince et spectrofluorimétrie ou par radio-immunologie (Jouve, 2009).

1-3-7 Traitement :

Ce traitement comporte deux volets : symptomatique et spécifique (antidote). L'intubation avec ventilation est souvent nécessaire. Contre les troubles neurologiques, l'administration de sédatifs tranquillisants est recommandée malgré le risque de dépression respiratoire (Klein-Schwartz et Odera, 1984).

1-3 Le Rein

1-4-1 Anatomie et physiologie

Le rein joue un rôle central dans le maintien du volume et de la composition ionique des fluides de l'organisme (homéostasie) (Sharp et Rigina, 1998).

Les modifications importantes de débit des urines et de leur composition traduisent les capacités du rein à s'adapter à une situation physiologique ou pathologique donnée. Le rein est la voie principale d'excrétion des déchets métaboliques non volatils, certains d'entre eux étant potentiellement toxiques. Il est formé de 2 zones distinctes :

- la médullaire profonde centrale
- le cortex périphérique (Ouhayoun et Arnal, 1969).

La médullaire interne qui forme la papille.

Le cortex coiffe la base des pyramides de Malpighi et s'insinue entre les pyramides constituant les colonnes de Bertin.

Les pyramides de Malpighi envoient des rayons médullaires appelés pyramides de Ferrein dans le cortex appelé labyrinthe (Eaton et Pooler, 2009) (Fig.6).

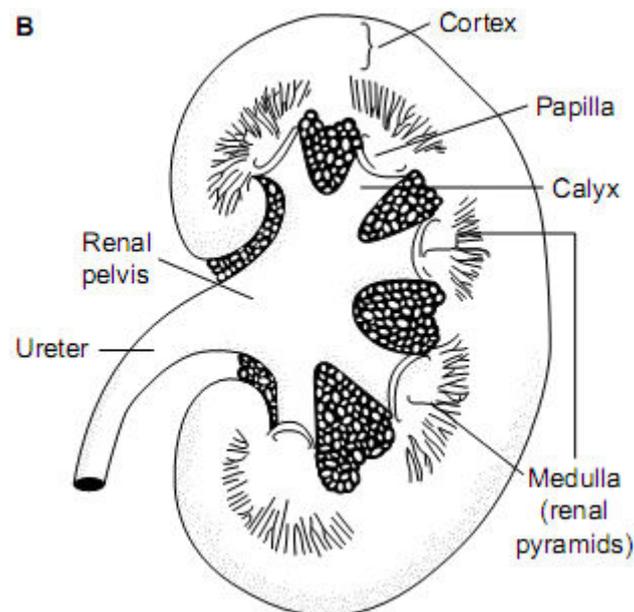


Fig.6: Structure du rein (Eaton et Pooler, 2009).

1-4-1-1 Le néphron

Le néphron est l'unité fonctionnelle du rein. Chaque rein comporte environ 1 000 000 néphrons situés dans le tissu interstitiel ou cheminent également les vaisseaux et les nerfs (Raymond *et al.*, 2004 ; Ouhayoun et Arnal, 1969).

Le néphron est une unité très complexe, constitué d'un glomérule et d'un tubule. Ces différents segments ont leurs propres caractéristiques morphologiques et fonctionnelles bien définies (Blanchard *et al.*, 2008 ; L 'Azou, 2007 ; Helardot *et al.*, 2006) (Fig.7).

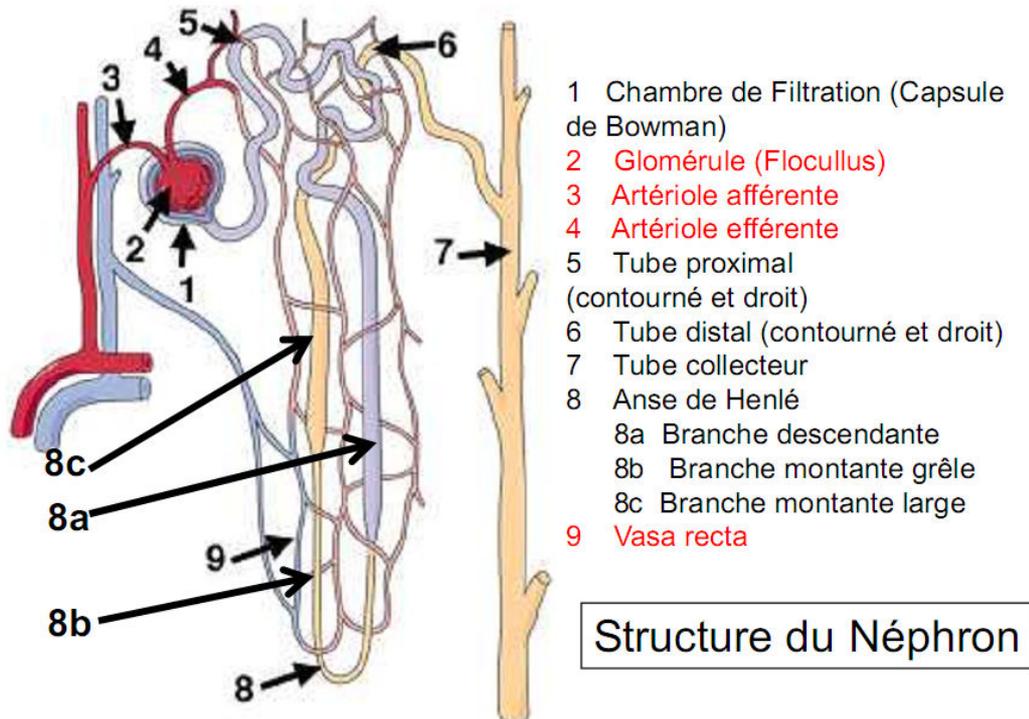


Fig.7: Structure du néphron (Bégué, 2010).

1-4-1-1-1 Le glomérule :

Le glomérule à la forme d'une sphère limitée par une enveloppe, la capsule de Bowman, constituée par des cellules épithéliales reposant sur une membrane basale qui se prolonge avec celle du tube contourné proximal et avec celle du floculus (Blanchard *et al.*, 2008., Ramiro, 2007).

Le glomérule présente 2 pôles : un pôle urinaire où s'insère le tube contourné proximal et un pôle vasculaire où pénètre l'artériole afférente et d'où sort l'artériole efférente au contact de l'appareil juxta glomérulaire (Helardot *et al.*, 2006) (Fig.8).

Chaque glomérule est constitué de plusieurs types cellulaires (Cellules mésangiales, cellules endothéliales, cellules épithéliales viscérales, cellules épithéliales pariétales) (Magali *et al.*, 2008).

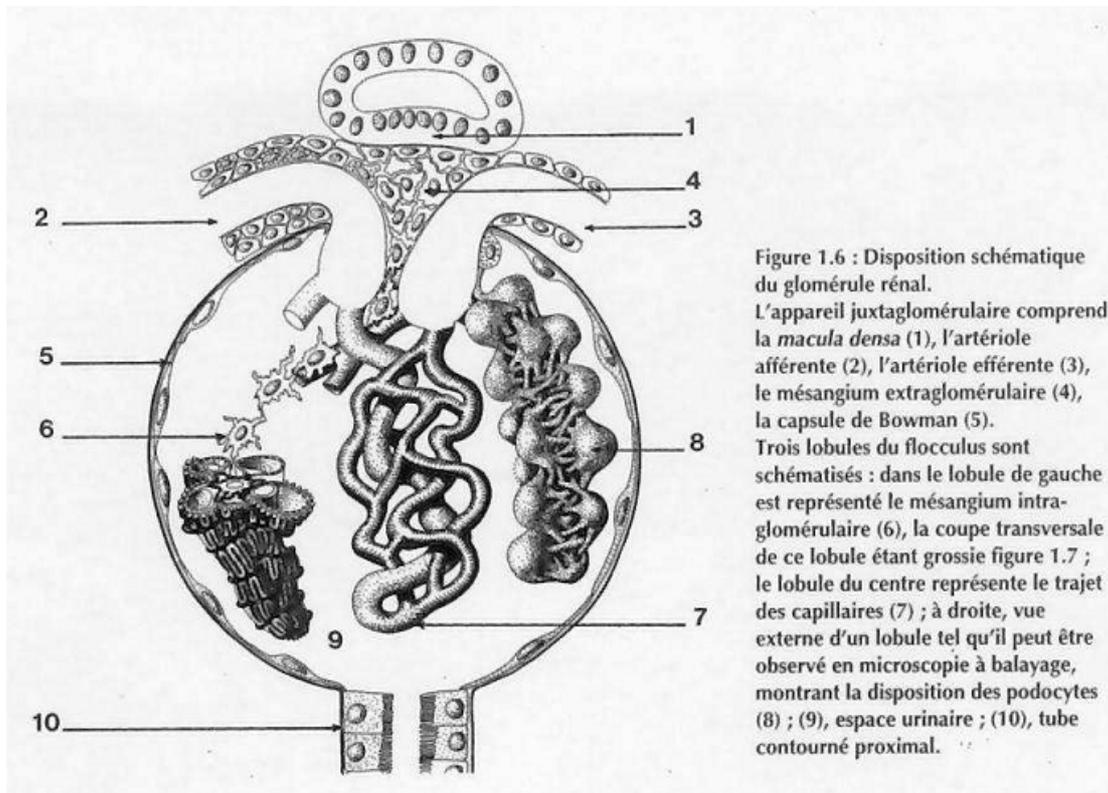


Fig.8: Disposition schématique du glomérule rénal (Tarloff et Lawrence, 2004).

1-4-1-1-2 Le tubule

Le tubule est aussi subdivisé en plusieurs segments :

- Le tube contourné proximal (TCP).
- L'anse de Henlé (AH).
- Le tube contourné distal (TCD).
- Le canal collecteur (CC) (Massé., 2009).

1-4-2 Rôles physiologiques

1-4-2-1 Fonction des différents segments du néphron

- *Le tube proximal*

– A la sortie du tube proximal, le volume du liquide est réduit à 30% du volume initial, les bicarbonates ont été presque totalement soustraits la concentration de sodium et l'osmolarité

du liquide tubulaire sont identiques à celles du plasma (environ 300 mOsm/l). Il n'y a eu ni concentration ni dilution de l'urine primitive (Pérez-Martinet *al.*, 2007).

- ***Anse de Henlé***

- Le fluide tubulaire pénètre dans la branche descendante de l'anse qui descend dans un milieu hyperosmolaire.

- Son contenu atteint un équilibre osmotique avec le liquide interstitiel environnant par perte d'eau (H₂O) et/ou entrée de soluté (Na Cl).

- Dans la branche ascendante de l'anse, le gradient est inversé, le chlorure de sodium (Na Cl) est soustrait et de l'eau pénètre dans le tubule (Helardot *et al.*, 2006).

- ***Le tube distal***

- La réabsorption du sodium (Na⁺) est augmentée par l'aldostérone.

- Cette réabsorption se fait par échange avec un ion potassium (K⁺) ou hydrogène (H⁺).

- Les ions hydrogène (H⁺) proviennent de l'hydratation du gaz carbonique (CO₂).

[CO₂ + H₂O > CO₃H⁻ + H⁺].

- Deux mécanismes évitent la baisse brutale du pH urinaire lors de l'échange d'un ion hydrogène (H⁺) avec un ion sodium (Na⁺): la transformation de l'ammoniac (NH₃), produit du catabolisme de la glutamine, qui fixe un ion hydrogène (H⁺) pour donner dans les urines du chlorure d'ammonium (NH₄Cl) La transformation des phosphates disodiques (PO₄HNa₂) en phosphates mono sodiques (PO₄H₂ Na) (Massé., 2009).

- ***Le tube collecteur***

- A son niveau, l'hormone antidiurétique (ADH) augmente la perméabilité à l'eau.

- La variation de la perméabilité à l'eau permet à l'urine d'être diluée ou concentrée.

En l'absence d'ADH, le tube collecteur est imperméable à l'eau, une urine diluée est émise (minimum 50 mOsm/l).

En présence d'ADH, de l'eau est soustraite, une urine concentrée est émise (maximum 1200 mOsm/l) (Tarloff et Lawrence, 2004).

1-4-2-2 Réabsorption et sécrétion rénale de certaines substances

- **Lipides** : Le rein n'intervient pas dans le métabolisme des lipides. Toute présence de lipides dans les urines (lipurie) est pathologique.
- **Acides et bases faibles** : Il existe plusieurs voies de sécrétion et de réabsorption active le long du néphron dépendant du transport actif des ions hydrogène (H^+) donc du pH.

1-4-2-3 Fonction endocrine du rein

- **Système rénine angiotensine** : La rénine est une enzyme produite par le rein, elle réagit avec l'angiotensinogène, formé par le foie, pour produire l'angiotensine I.
- **Vitamine D** : Le rein intervient dans le processus d'hydroxylation de la forme inactive de la vitamine D donnant ainsi le métabolite biologiquement actif. La vitamine D active permet l'absorption digestive du calcium alimentaire, l'accrétion osseuse du calcium, la résorption osseuse du calcium en présence de parathormone (Blanchard *et al.*, 2008).

1-4-3-4 Hormones et fonction rénale

- **Aldostérone** : Hormone provenant de la corticosurrénale, elle agit au niveau du tube distal en favorisant la réabsorption du sodium (Na^+) en échange d'un ion potassium (K^+) ou hydrogène (H^+).
- **Hormone antidiurétique (ADH)** : Hormone formée dans l'hypothalamus, accumulée et libérée par la posthypophyse, elle augmente la perméabilité à l'eau des portions corticale et médullaire du système collecteur.
- **Glucocorticoïdes** : En l'absence de glucocorticoïdes, le débit de filtration glomérulaire diminue, le néphron distal (tube distal et tube collecteur) devient plus perméable à l'eau, il existe des difficultés à excréter une charge hydrique (Bégué, 2010 ; Blanchard *et al.*, 2008., Ramiro, 2007).

1-5-3 Marqueurs biochimiques de la fonction rénale

- **Créatinine** : est une molécule azotée produite par l'organisme par l'intermédiaire du catabolisme de la créatine qui est un composé protéique contenu dans le tissu musculaire. La créatinine est une molécule physiologiquement inerte. Cela signifie qu'elle n'est ni métabolisée, ni utilisée d'une quelconque manière par l'organisme. Elle est strictement éliminée par les reins. Son dosage est employé dans l'évaluation de la fonction rénale et plus particulièrement dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire (Marchall et Bangert, 2004).
- **Urée** : représente la forme principale d'élimination de l'azote, synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie, c'est un des premiers marqueurs qui a été utilisé pour mesurer le débit de filtration glomérulaire (Frank, 1992).
- **Hormone Parathyroïdienne et Calcitonine** : Ces hormones augmentent l'élimination urinaire du calcium et du phosphore (Tarloff et Lawrence, 2004).

1-5 Le Foie

1-5-1 Anatomie et physiologie du foie

Le foie est un organe coloré foncé suspendu juste sous le diaphragme, divisé en **quatre lobes principaux** :

- ☛ lobe médian ou cystique - situé au-dessus, il y a une fissure centrale évidente.
- ☛ lobe latéral gauche - grand et partiellement couvert par l'estomac.
- ☛ lobe latéral droit - partiellement divisé en lobule antérieur et postérieur, caché de la vue par le lobe médian.
- ☛ lobe caudale - petit et plis autour de l'œsophage et de l'estomac, vus le plus facilement quand l'estomac est augmenté (Fig.9).

Le foie a beaucoup de fonctions, dont une est de produire la bile, qui facilite en digérant la graisse. Le foie transforme également des pertes en substances moins nocives. Les rats n'ont pas la vésicule biliaire, qui est utilisé pour stocker la bile chez d'autres animaux (Suckow *et al.*, 2005).

Cellules hépatiques : On distingue la cellule parenchymateuse (hépatocyte) et les cellules sinusoidales (cellule endothéliale, cellule de Kupffer et cellule étoilée du foie) dont les rapports sont schématisés dans la Fig.11 (Deugnier, 2005).

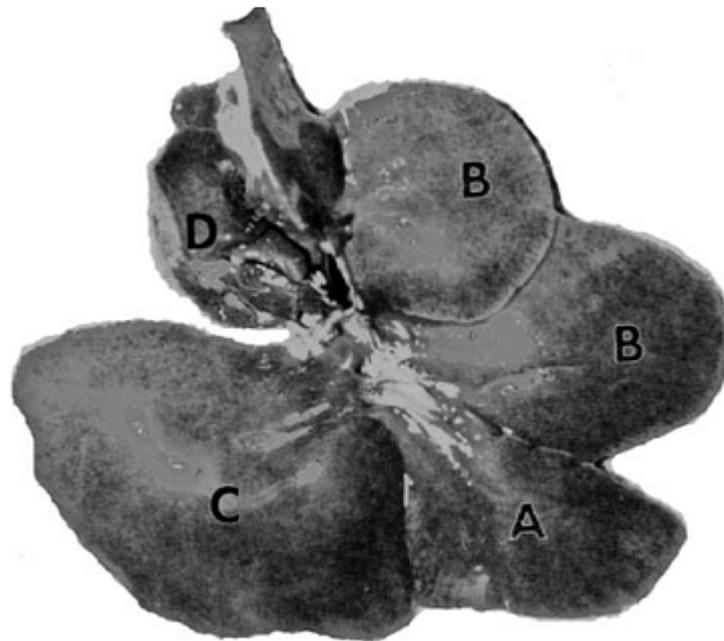


Fig.9 : Les quatre lobes principaux du foie :A : médian ;B :Latéral Droit ;C : Latéral Gauche et D :Caudale (Suckow *et al.*, 2005).

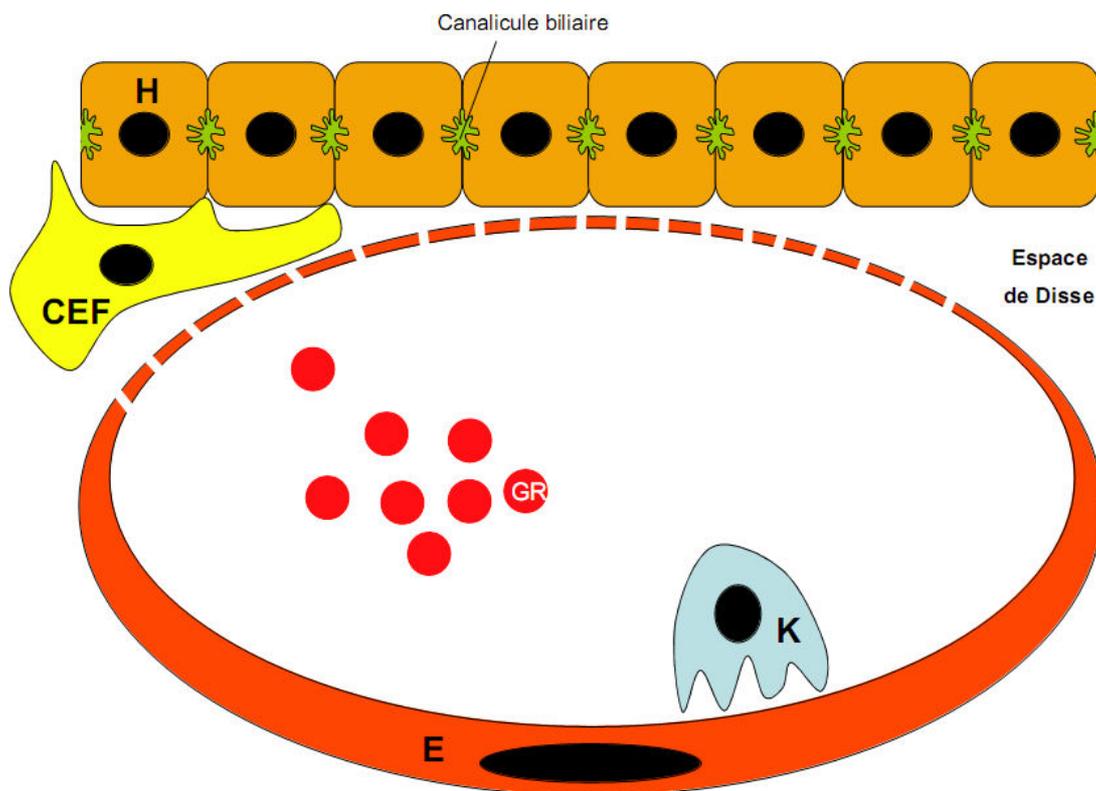


Fig.10 : Les différentes cellules hépatiques (H = hépatocyte, CEF = cellule étoilée du foie, E = cellule endothéliale, K = cellule de Kupffer – GR = globule rouge). Aspect tel qu'en microscopie électronique (Deugnier, 2005).

1-5-2 Marqueurs enzymatiques du Foie

- **Enzyme Non spécifique :**

- Aspartate aminotransférase (AST)
- Lactate déshydrogénase (LDH)
- Isocitrate déshydrogénase (ICD)
- Phosphatase alcaline (ALP)

- **Enzymes spécifique :**

- Alanine aminotransférase (ALT)
- Sorbitol déshydrogénase (SDH)
- Glutamate déshydrogénase (GDH)
- Arginase (ARG)
- Gamma-glutamyltransferase (GGT) (Limdiand et Hyde, 2003).

1-5-3 Fonctions Hépatiques : 3types de fonctions:

1. Filtration – détoxification (cellules de Kupffer)
2. Synthèse – excrétion (hépatocytes)
3. Sécrétion biliaire (digestion) (Plaa et Hewitt, 1997).

1-5-2-1 Fonction métabolique

- **Hydrates de carbone**

Le foie est l'organe essentiel de l'homéostasie glucidique

Forme de réserve du glucose : glycogène

- ✓ Hépatocytes péri – portaux : synthèse de glycogène de source non glucidique comme le lactate, les acides gras et les acides aminés (néoglucogénèse).
- ✓ Hépatocytes péri – hépatique : synthèse de glycogène à partir du glucose (Arias *et al.*, 2009).

- **Protéines**

Le foie joue un rôle dans la synthèse des protéines, de l'urée et de la glutamine. La plupart des protéines plasmatiques : Albumine, protéines de l'hémostase, protéines de transport « céruloplasmine (cuivre), transferrine (fer) » et protéines de l'inflammation et facteurs de croissance.

- **Lipides**
- ✓ Le foie joue un rôle dans Homéostasie du cholestérol et des triglycérides et synthèse des apoprotéines nécessaires à la formation des transporteurs des lipides dans le plasma : VLDL et HDL
- ✓ L'organe principal de stockage et transformation des vitamines liposolubles (Neviere, 2009).

1-5-3-3 Fonction d'élimination

- **Catabolisme protéique** : Métabolisme de l'ammoniac (NH_4^+) résultant du catabolisme des protéines.
Les hépatocytes péri-portaux captent NH_4^+ et le transforment en urée éliminée par le rein.
- **Métabolisme de la bilirubine** : Produit de la dégradation de l'hème subit une conjugaison dans les hépatocytes puis élimination dans les intestins, une partie est déconjuguée dans l'intestin = urobilinogène est éliminé dans les urines, le reste dans les selles  Coloration (Déborah, 2010).

1-5-3-4 Fonction exocrine

Formation de la bile produite constamment par le foie, stockée dans le cholagogue, voie d'excrétion de nombreux peptides et protéines hépatiques, du cholestérol et des stéroïdes inactivés et oxydés, des pigments biliaires (bilirubine conjuguée, coproporphyrines I et III) et de xénobiotiques divers (Déborah, 2010).

1-6 L'Hémolyse

L'hémolyse est la lyse (destruction) des globules rouges. Celle-ci peut être simplement réalisée en plaçant des globules rouges dans une solution hypotonique (hémolyse osmotique).

Pendant ce phénomène, l'érythrocyte passe de sa forme de disque biconcave à une forme sphérique et est caractérisé par le passage des ions K^+ vers le milieu extracellulaire pendant que des ions Na^+ passent dans le milieu intracellulaire. Si l'érythrocyte est maintenu dans ce milieu hypotonique, la membrane cellulaire est rompue, aboutissant à la libération du contenu dans le milieu extracellulaire, c'est l'hémolyse (Chwalek, 2004).

CHAPITRE II
MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

II.1 Matériels

2-1-1 Matériels biologiques

2 -1-1-1 Matériel végétal

Les graines de *Datura stramonium* L. sont récoltées au mois de septembre, période de floraison et fructification, près des cultures maraîchères dans la région de El Smara- El Eulma située à 25 km au à l'est de la ville de Sétif (Fig.11).



Fig.11 : Plante de *Datura stramonium* L. avec feuilles, fleurs et fruits.

Les graines sont utilisées comme support pour les essais biologiques à cause de leur forte concentration en alcaloïdes.

Les graines récoltées après maturation, sont débarrassées de toutes les impuretés, séchées au laboratoire à la température ambiante entre 25°C et 27°C et à l'abri du soleil et de la lumière pendant dix jours (Fig.12).



Fig.12 : Fruit et graines de *Datura stramonium* L.

2-1-1-1-1 Analyse phytochimique

2-1-1-1-1-1 Extraction des alcaloïdes totaux

L'extraction des alcaloïdes totaux à partir des graines du *Datura stramonium* L. est obtenue par une extraction liquide-liquide, basée sur la différence de solubilité des alcaloïdes en milieu acide et alcalin dans l'eau d'une part et d'autre part dans les solvants organiques.

80 g de graines de la plante sont finement broyées par un broyeur électrique. La poudre obtenue est dilipidée par 300 ml d'éther de pétrole par macération et sous agitation mécanique à température ambiante pendant 3 à 4 heures.

Après filtration, le marc (graines moulues débarrassées de la matière grasse) est alcalinisé par une solution 30 ml d'ammoniaque (0.5N) pendant au moins 24 heures à température ambiante permettant ainsi aux alcaloïdes de passer de la forme sel à la forme organique.

Les alcaloïdes totaux sont extraits par l'extracteur de Soxhlet en utilisant un solvant non miscible avec l'eau.

La poudre des graines alcalisée est placée dans le Soxhlet fixée sur un ballon contenant 500 ml de dichlorométhane et est surmonté d'un réfrigérant. 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.

Au moins 5 cycles sont nécessaires pour un épuisement total des graines.

A l'issue de cette opération, l'extrait brut est lavé trois fois successives par une solution de 150 ml d'acide sulfurique (0.5N) pour chaque volume, les trois fractions sont reprises dans une ampoule à décantation, alcalinisées jusqu'à pH 9 par ajout de quelques ml d'ammoniaque (0.5N).

Nous épuisons ensuite trois fois la solution par 150 ml d'éther d'éthylque, en agitant doucement l'ampoule à chaque fois.

Nous récupérons les trois fractions organiques dans un Erlen Mayer, qui seront déshydratées par filtration sur papier filtre soutenant du sulfate de sodium anhydre.

L'extrait recueilli dans un bêcher taré est évaporé à sec sur plaque chauffante. Après refroidissement, nous pesons à nouveau le bêcher. Le résidu sec représente les alcaloïdes totaux (Fig.14 et 15) (Vercauteren, 2007 ; Bruneton, 1999).



Fig.13 : Extracteur de Soxhlet utilisé.

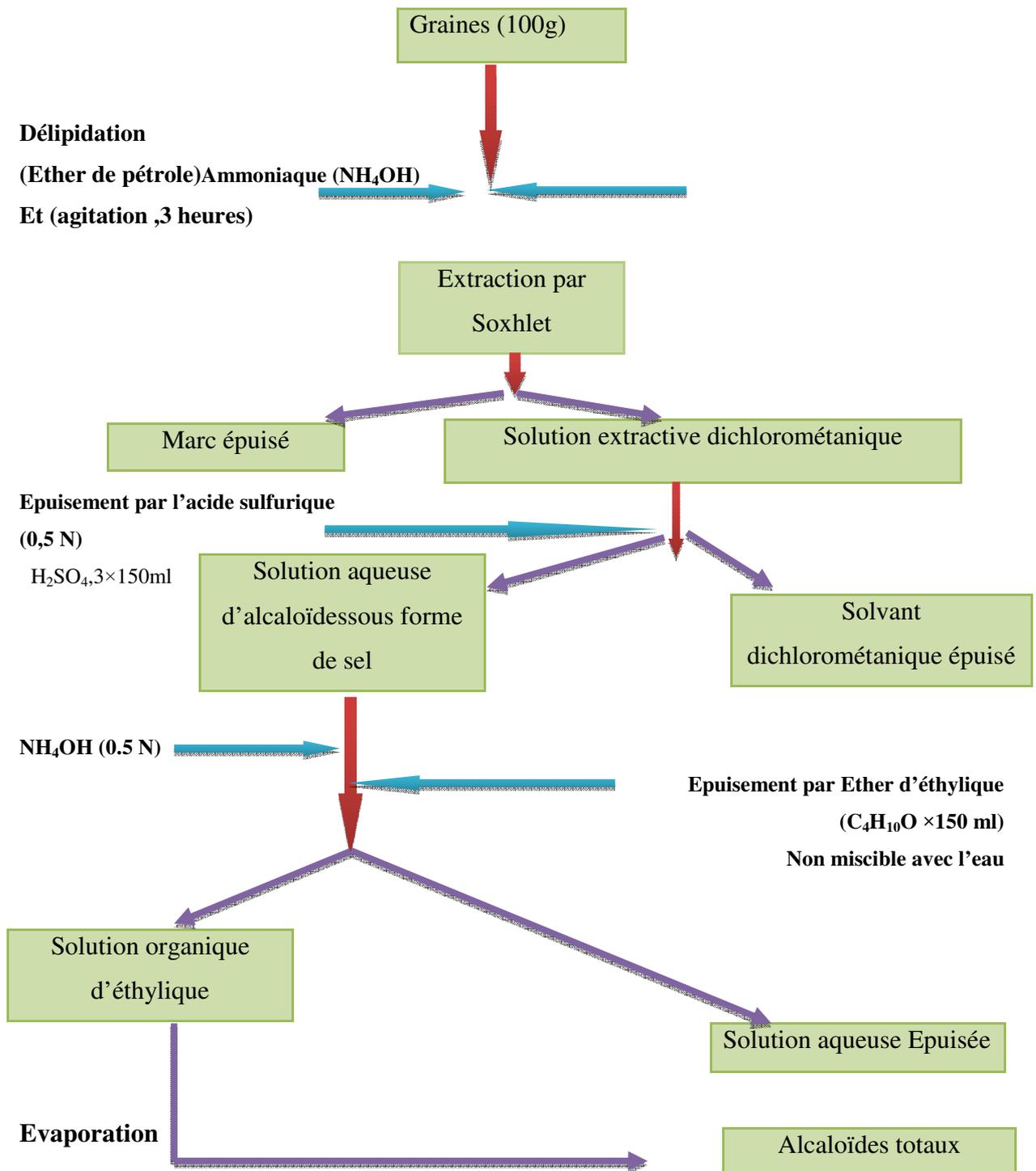


Fig.14 : Extraction des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. (Vercauteren, 2007 ; Bruneton, 1999)

2-1-1-1-2 Analyse qualitative des alcaloïdes totaux

2-1-1-1-2-1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

Pour vérifier la présence des alcaloïdes au moins majoritaires, atropine et scopolamine dans l'extrait, on a réalisé une chromatographie sur couche mince en utilisant des plaques de Silica gel 60 F254 avec des dimensions 20 X 20 cm de marque MACHEREY-NAGEL (Germany). La phase mobile, constituée d'un mélange de « méthanol/chloroforme/ammoniaque : 79/20/1 (V/V/V) ».

Les standard utilisés, le sulfate d'atropine monohydrate et scopolamine hydrochloride, se présentent sous forme de poudre blanche provenant de la firme «FLUKA - USA».

Le réactif utilisé pour révéler la plaque est réactif de Dragendorff .

L'extrait est dissout dans 1 ml de méthanol.

Après dissolution des standards et de l'extrait dans du méthanol, nous déposons 10 µl de chaque solution à l'aide d'une micropipette sur la plaque à 1 cm du bord inférieur sur la ligne de base, on sèche chaque dépôt à l'aide d'un sèche- cheveux. La plaque est ensuite mise dans la chambre de migration contenant la phase mobile. Quand le front du solvant arrive à 4 cm du bord supérieur de la plaque, le chromatogramme est retiré, séché et pulvérisé avec le réactif de Dragendorff jusqu'à l'apparition de spots colorés (la migration d'une quinzaine de cm prend plus ou moins 45mn).

2-1-1-1-3Analyse qualitative et quantitative par HPLC :

La chaîne HPLC utilisée pour le contrôle analytique est munie d'un détecteur UV et la longueur d'onde de détection utilisée est 210 nm. Elle est constituée des éléments suivants:

Une pompe Perkin-Elmer-USA-isocratique, la Chrom 7100,à gradient binaire, une Vanne d'injection, vanne Rhéodyne, munie d'une boucle de 20µl, une colonne de silice C-18 de marque Perkin Elmer-USA-,(taille des particules: 5µm; longueur 125 mm; diamètre interne 4mm), un intégrateur Perkin Elmer-USA LCI-100.

La phase mobile est une solution 85% de tampon phosphate pH 2.5 , 15% d'acétonitrile (Aehle et Dräger, 2010 ; Masanori *et al.*, 2005 ; Kirchhoff *et al.*, 2004 ; Dräger, 2002).

Après filtration sur membrane (0,45mm) et dégazage, cette phase est employée à un débit entre 1 et 1.3 ml/min .Les standards utilisés sont 106 mg/l de scopolamine hydrochloride et 102 mg/l d'atropine monohydrate. La concentration de l'extrait à tester est de 0.016 g/ml.

2-1-1-2 Matériel animal

Des souris blanches mâles de l'espèce *Mus musculus*, pesant entre 30 et 40 g et des rats mâles et femelles de l'espèce *albinos Wistar* ayant un poids variant entre 140 et 200 g et provenant de l'institut Pasteur d'Alger ont été employées pour l'étude. Ils sont logés dans des cages en plastique transparent d'une longueur de 55 cm, d'une largeur de 33 cm et d'une hauteur de 19 cm.

Les animaux ont disposé d'eau du robinet et de nourriture ad libitum, la litière est renouvelée chaque 3 jour.

Les animaux sont acclimatés aux conditions de l'animalerie de Faculté des sciences de la nature et de la vie – Université de Sétif pendant une quinzaine de jours avant l'expérimentation.

2-1-1-2-3 Détermination de la DL50 chez les rats mâles et femelles

Après une période d'acclimatisation, les rats sont pesés, identifiées par un marquage avec une solution aqueuse d'acide picrique et réparties en 3 groupes de 10 animaux.

L'extrait des graines de *Datura stramonium* L. à tester, est solubilisé dans quelques gouttes de méthanol et dilué dans de l'eau physiologique et deux doses différentes sont administrées à deux groupes par voie IP. Le groupe témoins a reçu de l'eau physiologique avec quelques gouttes de méthanol.

➤ *Chez les rats mâles :*

Un groupe témoin de 10 rats et deux autres groupes traités de 10 traités avec les doses 174 mg/kg et 460 mg/kg.

➤ *Chez les rats femelles*

Un groupe témoin de 10 rats et deux groupes traités de 10 traités avec les doses 142 mg/kg et 260 mg/kg.

Faute d'animaux, nous étions obligés d'utiliser la méthode de Bahrens pour déterminer les DL₅₀ chez les rats mâles et femelles :

$$DL_{50} = A + (50 - a) / (a - b) D.$$

A : la dose provoquant a% de mortalité (a<50).

B : la dose provoquant b% de mort (b>50).

D : l'intervalle entre les doses expérimentées A.

2-1-1-2-1 Toxicité aiguë chez les rats mâles :

Des rats mâles *Wistar albinos* adultes, pesant entre 140 et 250 g, et sont identifiés par marquage avec une solution aqueuse d'acide picrique, et sont répartis en 4 groupes expérimentaux renfermant chacun 10 rats :

- ✿ Deux groupes d'animaux témoins.
- ✿ Deux groupes d'animaux traités.

-Toxicité aiguë après le premier jour : un groupe témoins et un groupe traité (lot 1).

-Toxicité aiguë après le cinquième jour : un groupe témoins et un groupe traité (lot 2).

- ✓ Les animaux sont privés de nourriture 24 heures avant l'essai. Ils sont pesés au moment de l'application.
- ✓ Les alcaloïdes totaux expérimentés de couleur jaunâtre sont solubilisés dans quelques gouttes de méthanol, ensuite dilué dans de l'eau physiologique.
- ✓ Les animaux sont traités par voie IP et par simple application avec la dose de 100 mg/kg (1/3 DL₅₀) d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. et les groupes témoins ont reçu de l'eau distillée avec quelques gouttes de méthanol. Après le traitement, les animaux sont observés chaque heure pendant le premier jour et chaque jour pour le deuxième lot, pour noter le comportement et la carte clinique.

- le premier lot est pesé et sacrifié après 24 heures de l'application.

-le deuxième lot est pesé et sacrifié après 5 jours de l'application.

- ✓ Après dissection, les organes (rein, rate, foie, testicules, poumons, cœur et cerveau) sont observés macroscopiquement *in situ*, prélevés, débarrassés de l'excès de graisse, séchés avec du papier filtre et pesés.
- ✓ Des pièces de reins et des foies sont conservés dans une solution de formol à 10% pour des études anatomopathologiques.
- ✓ Le sang est prélevé par une ponction du sinus rétro-orbitaire pour réaliser différentes analyses hématologiques et biochimiques.

2-1-1-2-2 Toxicité aiguë chez les souris mâles :

Des souris mâles *Mus musculus*, pesant entre 20 et 30 g, et sont identifiés par marquage avec une solution aqueuse d'acide picrique, et sont répartis en 3 groupes expérimentaux renfermant chacun 10 souris :

- ✿ Un groupe d'animaux témoins.
- ✿ Deux groupes d'animaux traités par les alcaloïdes totaux.

-Toxicité aiguë après le premier jour : un groupe témoins et un groupe traité (lot 1).

- Toxicité aiguë après le cinquième jour : un groupe traité (lot 2).

- ✓ Les animaux sont privés de nourriture 24 heures avant l'essai et pesés au moment de l'application.
- ✓ Les alcaloïdes totaux sont solubilisés dans quelques gouttes de méthanol, dilués dans de l'eau physiologique.
- ✓ Les animaux sont traités par voie IP et par simple application avec la dose de 60mg/kg (1/5 DL₅₀) d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. et les groupes témoins ont reçu de l'eau distillée avec quelques gouttes de méthanol (Benouadah., 2009). Après le traitement, les animaux sont observés pour noter le comportement et la carte clinique.

- Le groupe (traité 1) et le groupe témoins sont pesés et sacrifiés, après 24 heures de l'application.

- Le groupe (traité 2) est pesé et sacrifié, après 5 jours de l'application.

- ✓ Après dissection, les organes (rein, rate, foie, testicules, poumons, cœur et cerveau) sont observés macroscopiquement *in situ*, prélevés, débarrassés de l'excès de graisse, séchés avec du papier filtre et pesés.
- ✓ Des pièces des reins et des foies sont conservées dans une solution de formol à 10% pour des études anatomopathologiques.
- ✓ Le sang est prélevé par une ponction cardiaque pour les études hématologiques et biochimiques.

2-1-1-2-4 Toxicité subchronique

Les rats mâles sont répartis en deux lots, un lot témoin de sept rats et un lot traité de quinze rats répartis dans deux cages.

Les rats ont reçu des alcaloïdes commerciaux (atropine, scopolamine) par voie intra péritonéale. Les alcaloïdes commerciaux (atropine et scopolamine) sont dissouts dans l'eau physiologique. Les animaux sont traités chaque jour et six jours sur sept pendant un mois avec la dose 4.02 mg/kg de sulfate d'atropine et 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride.

Les rats sont pesés chaque semaine. Après 30 jours les rats sont sacrifiés et les organes sont observés macroscopiquement *in situ* (rein, rate, foie, testicules, poumons, cœur et cerveau), prélevés, débarrassés de l'excès de graisse, séchés avec du papier filtre et pesés.

Des pièces de reins et des foies sont conservés dans le formol à 10% pour des études anatomopathologiques.

2-1-1-2-5 Etude de quelques paramètres hématologiques et biochimiques sériques

Au départ les rats sont anesthésiés par inhalation dans une cloche à l'aide de l'éther éthylique puis des prélèvements du sang sont effectués à l'aide des tubes capillaire d'hématocrites à travers le sinus rétro-orbital au niveau de la veine orbitale des rats. Le recueil de sang a été effectué respectivement sur des tubes EDTA (pour la FNS), et sur des tubes Héparine pour le bilan rénal et hépatique au cours de chaque prélèvement.

Les tubes héparines sont centrifugés à 3000 tours/min pendant 10 min, et dans le sérum obtenu, sont dosées les paramètres biochimiques suivants : Glucose, Créatinine, Urée, TGO, TGP et PAL.

Les dosages hématologique et biochimique sont effectués au laboratoire central du CHU de Sétif. L'analyse des paramètres hématologiques (RBC, WBC, PLT, HGB, HCT, MCV, MPV, MCH, MCHC) a été effectuée à l'aide d'un Beckman coulter Médonic.

Le dosage des paramètres sériques (Glucose, Créatinine, Urée, sodium, potassium, TGO, TGP, PAL) a été fait l'aide d'un Beckman coulter Synchron CX-9 clinical system ALX.

2-1-1-2-6 Technique histologique

Les reins et les foies sont fixés dans du formol 10 %, sont coupés en des pièces de 5 à 10 millimètres, déposés dans des cassettes en plastique, puis sont déshydratés (par immersion dans des bains successifs d'alcools et d'acétone, ces derniers sont éliminés par des solvants

(xylo), avant d'être coulé dans des moules contenant de la paraffine fondue par chauffage à 60°C (paraffine liquide) (Rigalli et Verónica, 2009).

Après refroidissement le bloc solide de paraffine contenant le tissu est coupé à l'aide d'un microtome permettant de réaliser des coupes de 5 µm d'épaisseur. Les coupes obtenues sont étalées et collées sur des lames, puis séchées dans une étuve pendant une nuit. Elles sont ensuite colorées par une solution d'hématoxyline-éosine.

Après coloration le montage se fait à l'aide de l'eukitt ; l'échantillon est placé entre lame et lamelle. La préparation est séchée à l'air.

Ces coupes histologiques sont réalisées au laboratoire d'anatomopathologie de CHU de Sétif.

2-1-1-2-7 Traitement des érythrocytes par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L (in vitro)

Ce test est évalué selon la méthode Chwalek (2004) avec quelques modifications.

Le sang est récupéré par la veine orbitale dans des tubes héparines. Après centrifugation à 1500 g/min pendant 5 min, le surnageant est éliminé et le culot est lavé trois fois par une solution tampon phosphate salin PBS (125 mM NaCl ,10mM de diphosphate de sodium, pH 7.4), la dernière centrifugation dure 10 min. Le culot cellulaire obtenu est dilué avec la solution PBS pour obtenir un hématocrite de 2%.

L'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L est solubilisé dans 80 µl de méthanol, dilué dans du tampon phosphate salin pour obtenir une concentration de 7.4 mg/ml (solution mère), à partir de cette solution mère une série de tubes à essai de différentes concentrations est préparée par dilutions avec du tampon phosphate salin (La gamme de concentration de l'extrait est comprise entre 0.2 et 7.4 mg/ml)

L'analyse est réalisée dans des microplaques de 96 puits. Dans chaque puits 180 µl de la suspension érythrocytaire préparée précédemment sont ajoutés, dans 6 puits on ajoute 100 µl de tampon phosphate salin (témoin), les autres puits reçoivent 100 µl de l'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. de concentration allant de 0.2 à 7.4 mg/ml. On laisse la plaque pendant 5 minutes à une température ambiante.

Le nombre des cellules restantes, est déterminé en mesurant l'absorbance à 630 nm, en utilisant le lecteur de plaque à 96 puits (ELx 800, Universal Microsofte Reader, Bio. Tek instrument, INC.) (Benouadah, 2009 ; Aurélie *et al.*, 2006).

2-1-2 Analyses statistiques :

La DL₅₀ est calculée à partir de la methode de Barhens.

Les données obtenues ont été analysées statistiquement par le t-test de Student pour la comparaison entre deux groupes et one way Anova suivi du test Tukey pour comparaison entre trois groupes et les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD pour la toxicité aigüe et subchronique. La détermination d'EC₅₀ (test d'hémolyse) est effectuée toujours avec le logiciel Graph Pad Prism.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION

3-1 RESULTATS

3-1-1 Extraction

L'extraction liquide- liquide des alcaloïdes tropaniques totaux à partir des graines de la stramoine, nous a permis d'obtenir un extrait de couleur brun jaunâtre avec un rendement d'extraction de $0,08254 \pm 0,00757$ g pour 80g qui représente 0.1 %.

3-1-2 Analyse qualitative

3-1-2-1 chromatographie sur couche mince CCM des alcaloïdes totaux

La chromatographie sur couche mince de l'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* a permis de séparer deux substances qui sont apparues sous forme de spots colorés après révélation, le premier spot en bas de la plaque situé au même niveau que celui du sulfate d'atropine (standard), et l'autre spot dans la partie supérieure situé au même niveau que celui de la scopolamine hydrochloride (standard), le spot de la partie inférieure est plus important. Les 2 spots correspondant donc à l'atropine et la scopolamine (Fig.15).

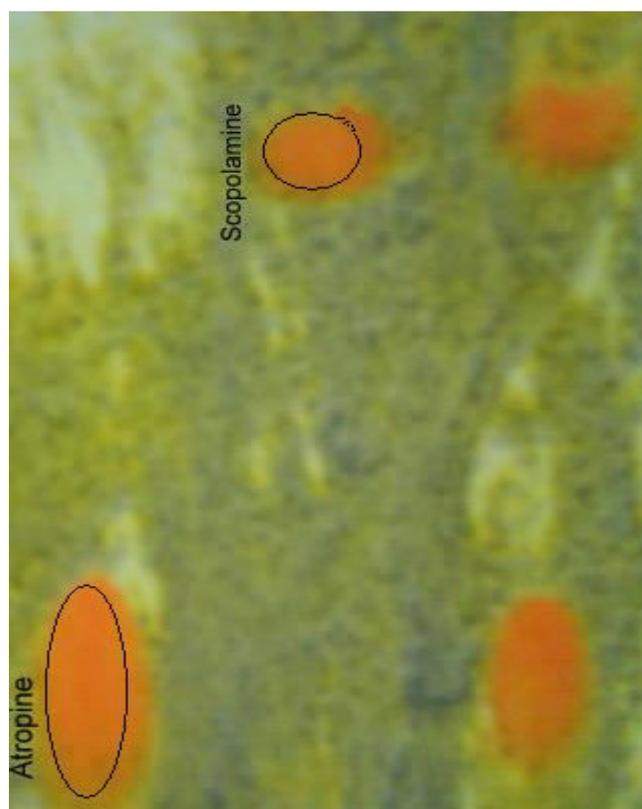


Fig. 15 : Séparation par chromatographie sur couche mince des alcaloïdes tropaniques majoritaires (atropine et scopolamine) des graines de *Datura stramonium* L.

Phase mobile : méthanol/chloroforme/ammoniaque: 79/20/1 (V/V/V).

Révélateur : réactif de Dragendorff.

3-1-2-2 Chromatographie liquide de haute performance des alcaloïdes totaux

Les chromatogrammes standards de sulfate d'atropine et scopolamine hydrochloride sont représentés dans la figure 16.

Les temps de rétention pour l'atropine et la scopolamine (étalons) sont respectivement 11.74 min et 6.77 min.

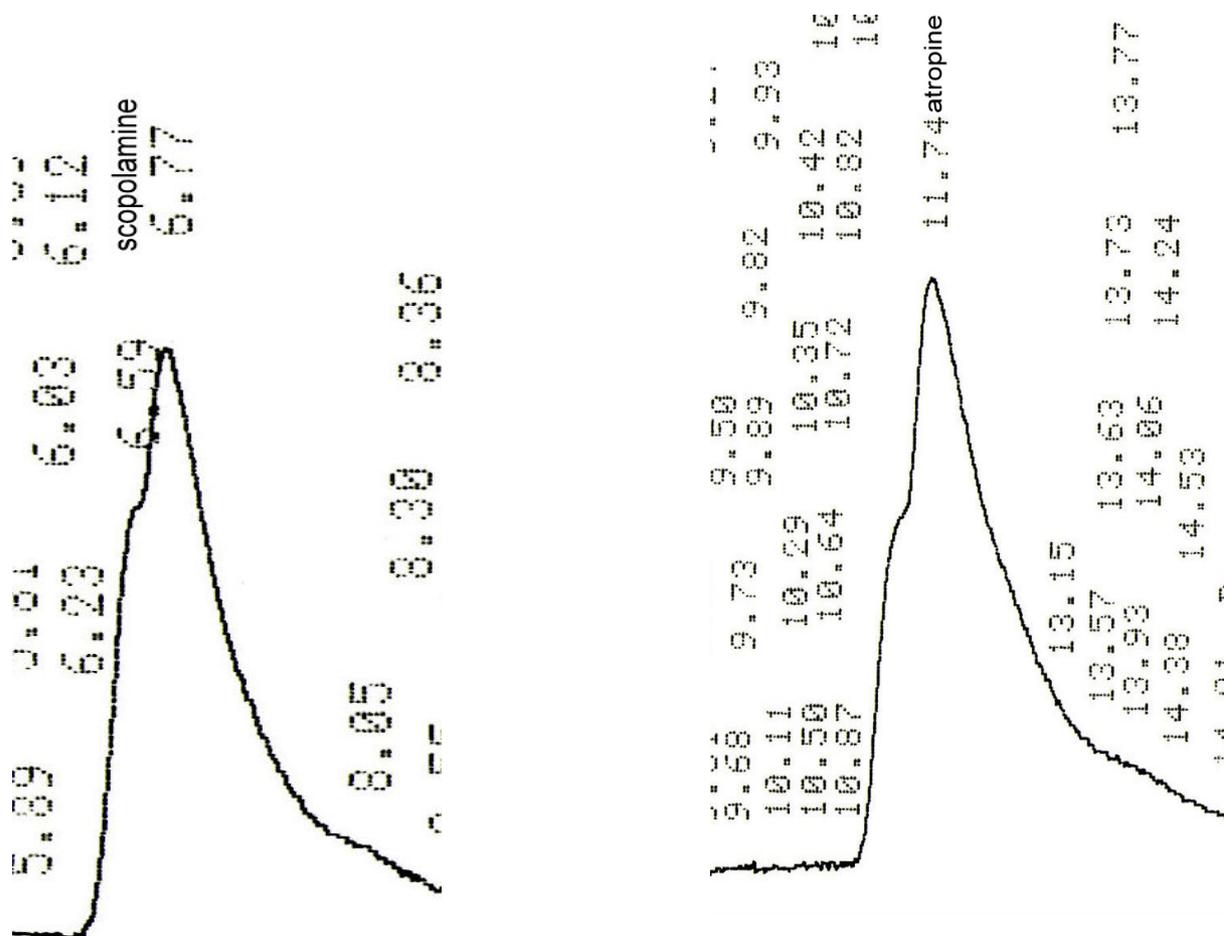


Fig.16 : Chromatographie en HPLC de scopolamine hydrochloride et sulfate d'atropine.

L'identification des composés de l'extrait des alcaloïdes totaux majoritaires des graines de *Datura stramonium* L se fait par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux obtenus pour les étalons. Cette comparaison, nous a permis de confirmer la présence de deux alcaloïdes, scopolamine avec un temps de rétention 6,50min, et l'atropine avec un temps de rétention 11,75min (Fig.17)

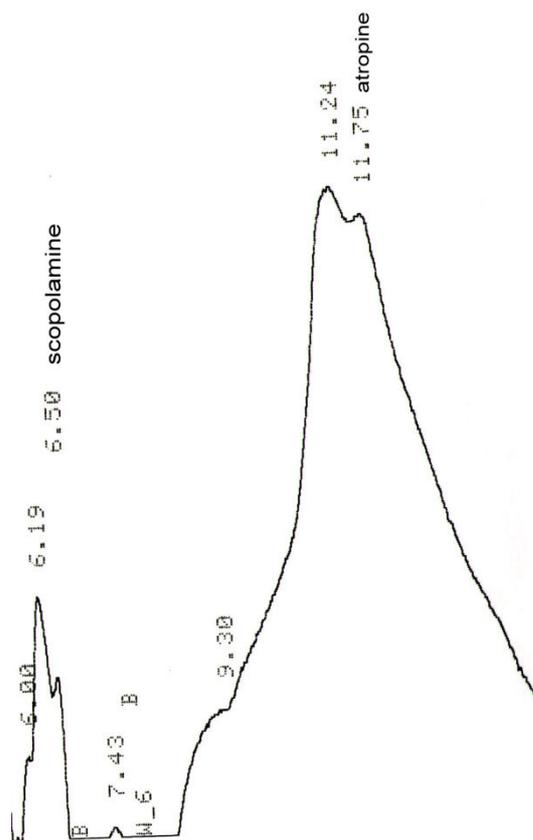


Fig.17 : Chromatogramme en HPLC des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L.

3-1-2-2-1 La courbe d'étalonnage

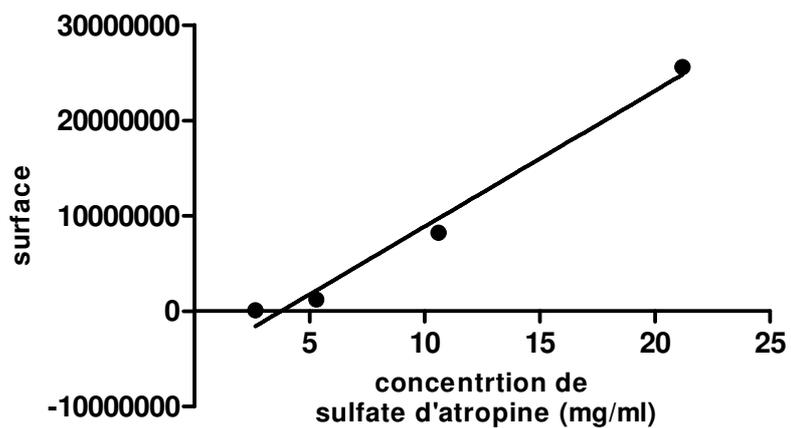


Fig. 18 : Courbe d'étalonnage de sulfate d'atropine.

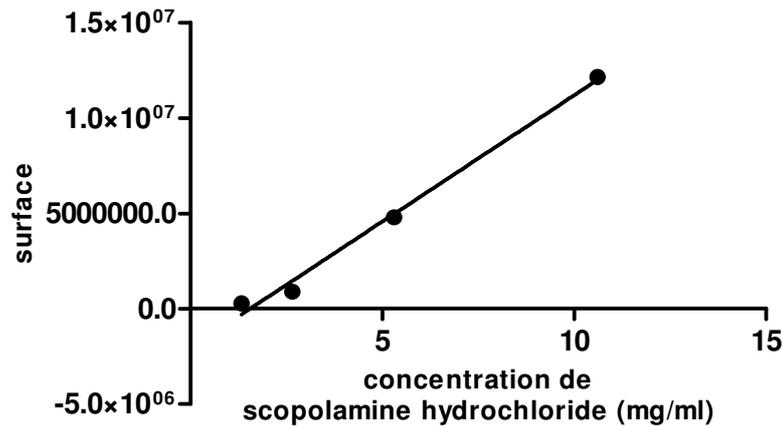


Fig. 19 : Courbe d'étalonnage de scopolamine hydrochloride.

Les courbes d'étalonnage de la scopolamine hydrochloride et sulfate d'atropine nous ont permis de déterminer les taux d'atropine et de scopolamine dans l'échantillon de l'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. et qui sont respectivement de 2 mg et 6 mg.

3-1-3 - Estimation de la DL50 par méthode de BAHRENS

🚩 Observation du comportement clinique des animaux

Dès le début du traitement, on a constaté chez les animaux une carte clinique caractérisée par des symptômes graves chez les animaux traités avec la dose la plus élevée :

- ☛ Fortes convulsions et agitation.
- ☛ Accélération de rythme cardiaque et une difficulté de respiration.

Secondairement, l'activité des animaux se réduit, leur démarche devient lente, puis peu à peu ils se couchent sur le ventre avec pattes postérieures écartées et cyanosées.

- La mort survient à partir de la 15^{ème} min jusqu'à 24^{ème} heures. Après 24 heures, les animaux survivants ont retrouvé un comportement normal comparable à celui des témoins.

🚩 Détermination de la DL₅₀ chez rats mâles

La DL₅₀ chez les rats mâles déterminés par la méthode de BAHRENS est de 303 mg/kg.

🚩 Détermination de la DL₅₀ chez rats femelles

La DL₅₀ chez les rats femelles déterminés par la méthode de BAHRENS est de 203 mg/kg.

3-1-4- Etude de la toxicité aigüe

3-1-4-1 Toxicité aigüe chez les rats mâles (Wistar albinos)

Les animaux traités avec 100 mg/kg de l'extrait des alcaloïdes totaux par simple application et par voie IP ont présenté une carte clinique dépourvue de symptômes de toxicité. Leur comportement ressemble à celui des animaux témoins.

Les masses relatives des organes des animaux traités et témoins sacrifiés après 24 heures et 5 jours, sont présentées dans les tableaux 3 et 4.

Il y avait une augmentation significative dans la masse relative de rein au 1^{ier} et 5^{ème} jours de 11.3% et 16.4% respectivement, ainsi une élévation significative de la masse relative des testicules aux 5^{ème} jours de 56.9%.

Tableau 3 : Masses relatives des organes des rats mâles traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium*, par simple application et par voie IP et sacrifiés après 24 heures. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD.

	Poumons	Cœur	Reins	Rate	Foie	Testicules
Témoins	0.00802	0.00374	0.00640	0.00331	0.0348	0.0151
	±	±	±	±	±	±
	(0.00104)	(0.000178)	(0.00257)	(0.000327)	(0.000767)	(0.00515)
	[0.000465]	[0.0000796]	[0.00115]	[0.0000146]	[0.000343]	[0.00232]
Traités	0.00713	0.0036	0.00727*	0.00299	0.036	0.0242
	±	±	±	±	±	±
	(0.000707)	(0.000517)	(0.00160)	(0.000584)	(0.00294)	(0.0371)
	[0.000257]	[0.000172]	[0.000543]	[0.000195]	[0.000980]	[0.0124]

* Significativement différent par rapport aux témoins (p<0.05).

Tableau 4: Masses relatives des organes des rats mâles traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium*, par simple application et par voie IP et sacrifiés après 5 jours. Les valeurs sont exprimées en moyenne ±SD.

	Poumons	Cœur	Reins	Rate	Foie	Testicules
Témoins	0.00676	0.00321	0.00427	0.000334	0.0355	0.0115
	±	±	±	±	±	±
	(0.00105)	(0.000414)	(0.000922)	(0.000675)	(0.00318)	(0.00301)
	[0.000332]	[0.000132]	[0.000292]	[0.000214]	[0.00101]	[0.00095]
Traités	0.00704	0.00337	0.00704*	0.00318	0.0329	0.0655*
	±	±	±	±	±	±
	(0.000729)	(0.000386)	(0.000798)	(0.000378)	(0.00948)	(0.0593)
	[0.000203]	[0.000122]	[0.000252]	[0.000120]	[0.00300]	[0.0188]

* Significativement différent par rapport aux témoins (p<0.05).

3-1-4-1-1 Etudes des paramètres biochimiques

Le Glucose et Urée du sérum des rats traités montrent une augmentation significative au 1^{er} jour de 41.26% et de 39.56 % respectivement et de 26.47% et de 57.75% respectivement après 5^{ème} jour (Fig. 20), aussi bien une élévation significative du sodium de 4.27% après le 5^{ème} jour (Fig. 21), Cependant, créatinine du sérum des rats traités n'a montré aucune différence significative comparée à celle du groupe témoins (Fig. 22).

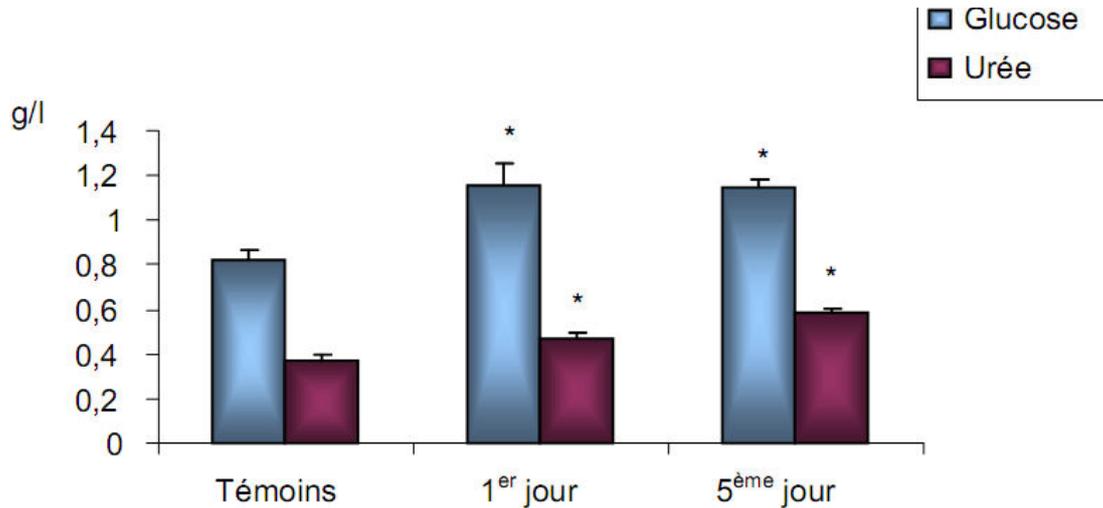


Fig.20: Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (urée, glucose) des rats témoins et traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP. Les valeurs sont présentées en moyenne ± écart type. * P < 0.05.

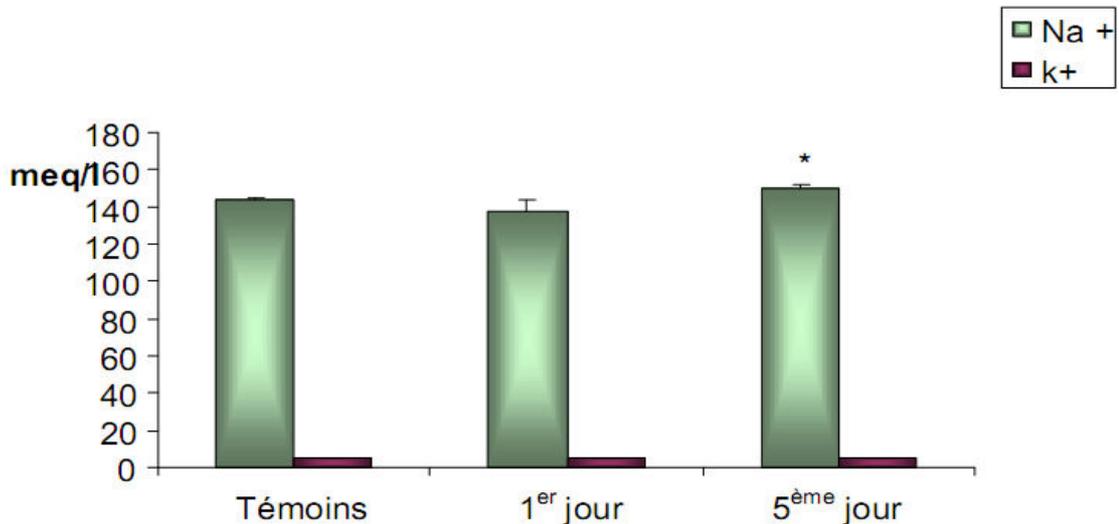


Fig.21: Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (Na⁺, K⁺) des rats témoins et traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP.

Les valeurs sont présentées en moyenne ± écart type. * P < 0.05.

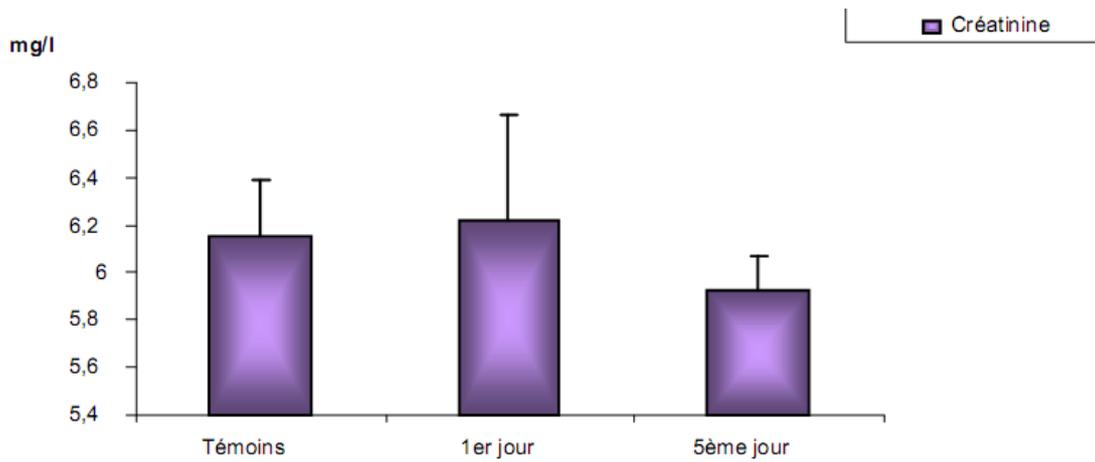


Fig.22 : Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (Créatinine) des rats témoins et traités avec la dose de 100 mg/kg d'alkaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm écart type. * P < 0.05.

On a constaté que les valeurs des transaminases (GOT et GPT) et la phosphatase alcaline (ALP) des animaux traités n'ont pas présenté de différence significative comparées avec celles des animaux témoins (Fig.23).

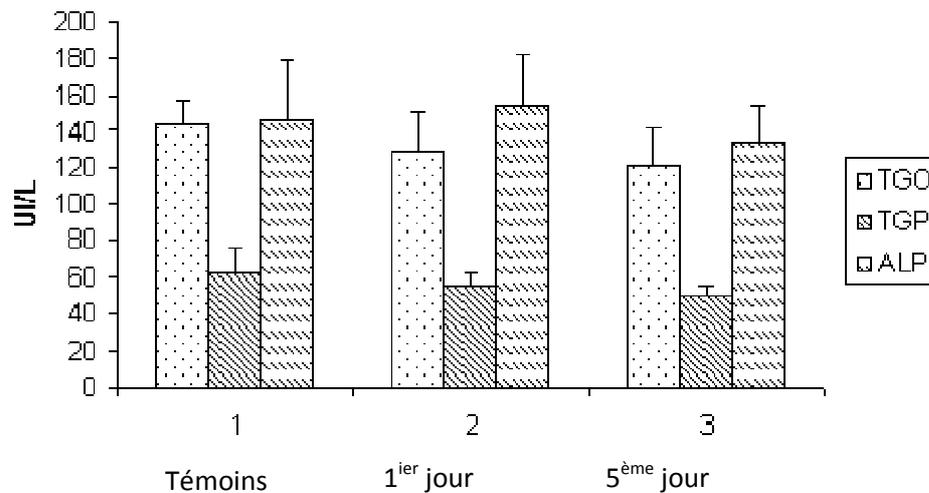


Fig.23 : Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (TGO, TGP et PAL) des rats témoins et traités avec la dose de 100 mg/kg d'alkaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm écart type. * P < 0.05.

3-1-4-1-2 Etudes des paramètres hématologiques

Le tableau 5 illustre les résultats hématologiques obtenu est révèle une augmentation significative de pourcentage de MCV pendant le 1^{er} jour et le 5^{ème} jour respectivement de 7.9 % et 6.39 % et des augmentations significatives de MCH et MCHC sont observées pendant le 1^{er} jour respectivement de 7.65% et 4.24 %.

On a observé aussi une diminution significative de pourcentage de RDW pendant le 1^{er} jour et le 5^{ème} jour de 8.27 % et de 11.24 % respectivement, et une diminution significative du taux des plaquettes et de l'hémoglobine pendant le 1^{er} jour respectivement de 20.24% et de 8.13, et MPV et les globules blancs pendant le 5^{ème} jour avec 9.3 % et 41,53%.

Tableau 5 : Paramètres hématologiques des rats mâles témoins et traités avec la dose de 100 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP et sacrifiés après 24 heures et 5 jours. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD. * P < 0.05.

Teste	RBC 10 ⁶ /mm ³	MCV µm ³	RDW %	HCT %	PLT 10 ³ /mm ³	MPV µm ³	WBC ₁₀ ³ /mm ³	HGB g/dL	MCH pg	MCHC
Groups										
Témoins	9.925	48.525	16.125	43.350	639	7.6	5.975	16.175	18.175	37.125
1^{er} jour	± (0.492) [0.0984]	± (0.655) [0.328]	± (1.034) [0.517]	± (4.856) [94.15]	± (0.436) [0.252]	± (2.347) [1.174]	± (2.347) [1.174]	± (1.37) [0.685]	± (0.532) [0.266]	± (1.121) [0.56]
Traites	8.592	52.776*	14.850*	45.45	618.83*	7.083	7.16	15.417*	19.067*	39.183*
1^{er} jour	± (0.833) [0.34]	± (3.384) [1.381]	± (0.973) [0.397]	± (5.985) [2.443]	± (107.61) [43.931]	± (0.402) [0.164]	± (1.743) [0.799]	± (1.976) [0.807]	± (1.208) [0.493]	± (1.542) [0.63]
Témoins	9.008	49.444	15.767	45.178	746.55	7.167	9.686	15.6	17.1	34.578
5^{ème} jour	± (0.985) [0.348]	± (2.296) [0.765]	± (0.789) [0.263]	± (5.706) [1.902]	± (125.31) 9) [41.743]	± (0.439) [0.146]	± (2.8) [1.058]	± (1.797) [0.666]	± (0.814) [0.271]	± (0.424) [0.141]
Traites	8.554	52.029*	14.38*	44.543	731.57	6.757*	4.933*	15.5	18.13	34.843
5^{ème} jour	± (0.662) [0.25]	± (1.723) [0.651]	± (0.724) [0.274]	± (3.762) [1.422]	± (94.571) [35.144]	± (0.251) [0.0948]	± (0.513) [0.209]	± (1.361) [0.515]	± (0.554) [0.217]	± (0.686) [0.221]

3-1-4-1-4 Etudes histologiques :

L'observation des coupes histologiques des reins et des foies des rats traités par rapport aux témoins a permis d'observer une légère congestion sanguine dans les conditions de la toxicité aiguë (1^{er} jour), cependant on a observé des distensions des tubes rénaux et une congestion du parenchyme rénal des reins des rats traités dans les conditions de la toxicité aiguë (5^{ème} jours). Les foies des animaux traités n'ont pas montré de changements histologiques remarquables par rapport à ceux des rats témoins.

3-1-4-2- Toxicité aigüe chez les souris mâles (*Mus musculus*)

La carte clinique des animaux traités avec une dose de 60 mg/kg de l'extrait des alcaloïdes totaux par simple application et par voie IP ont présenté une carte clinique dépourvue de symptômes de toxicité. Leur comportement ressemble à celui des animaux témoins.

L'étude de la masse relative de différents organes des souris mâles traités par une dose de 60 mg/kg d'alcaloïdes totaux de *Datura stramonium* n'a montré de changements dans les masses relatives des organes des souris sacrifiées après le 1^{ier} jour. Une diminution significative des masses relatives du cerveau et des poumons a été enregistrée respectivement de 7.6% et 8.2% après le 5^{ème} jour (tableau 6).

Tableau 6 : Masses relatives des organes des souris mâles témoins et traités avec la dose de 60 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP et sacrifiés après 1^{ier} et 5^{ème} jours. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± écart type. * P < 0.05, ** P<0.01.

	Foie	Reins	Cerveau	Cœur	Testicules	Poumons	Rate
Témoins	0,07557	0,01414	0,01862	0,00445	0,005833	0,007567	0,005817
	±	±	±	±	±	±	±
	0,00690	0,00053	0,00083	0,00028	0,00026	0,00019	0,00062
Traités	0,0617	0,01335	0,0194	0,004573	0,006159	0,007058	0,005171
1^{ier}	±	±	±	±	±	±	±
Jours	0,00601	0,00058	0,000380	0,000144	0,000262	0,000305	0,000684
Traités	0,0519	0,01273	0,01416	0,004718	0,005459	0,006207	0,00578
5^{ème}	±	±	±	±	±	±	±
Jours	0,0242	0,000765	0,00072**	0,000271	0,000324	0,000363*	0,000598

3-1-4-2-1 Etudes des paramètres biochimiques

Les résultats indiquent une augmentation significative des concentrations du glucose pendant le 5^{ème} jour de 26.47 % (Fig.25). Cependant la concentration de la créatinine ne montre pas de différence significative par rapport aux témoins (Fig.26). L'évaluation des paramètres de l'état du foie, a montré une augmentation significative des transaminases après le 1^{ier} et 5^{ème} jour respectivement de 50% et de 83.33% pour la GPT et de 40.84% après le 1^{ier} jour et de 19.71% après le 5^{ème} jour pour la GOT.

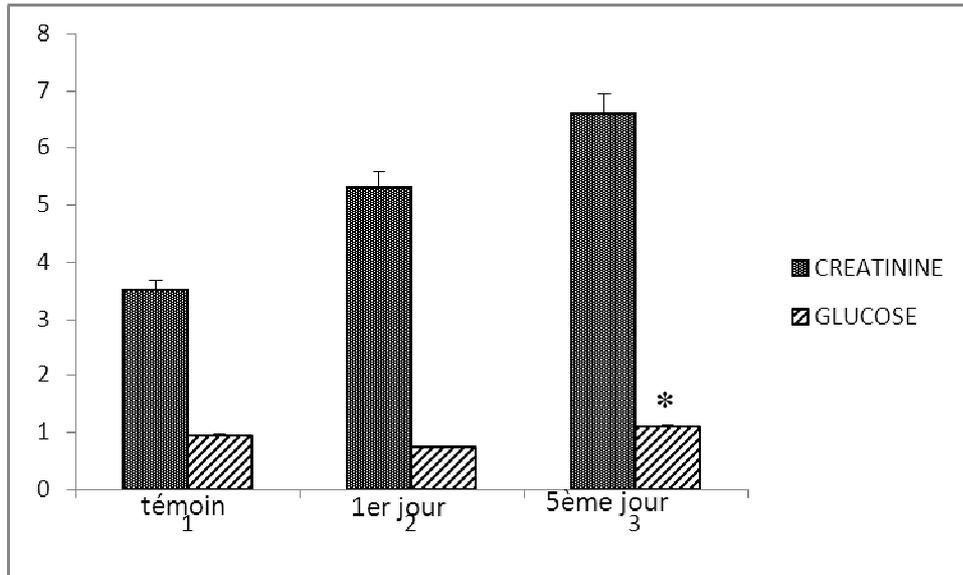


Fig. 24: Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (Glu et Créatinine) des souris témoins et traités avec la dose de 60 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm écart type. * P < 0.05.

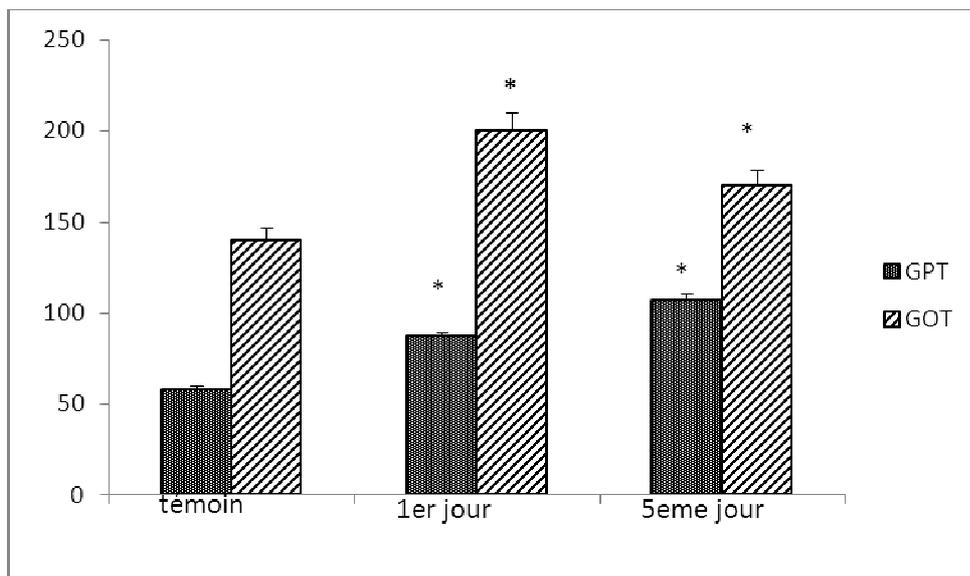


Fig.25: Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (GOT et GPT) des souris témoins et traités avec la dose de 60 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm écart type. * P < 0.05.

3-1-4-2-2 Etudes des paramètres hématologiques :

Le tableau 7 représente quelques paramètres hématologiques des souris mâles traitées avec la dose de 60 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L., n'a pas révélé de

changements notables chez les animaux sacrifiés après le 1^{ier} jour, cependant on a enregistré une augmentation significative de HGB, MPV, MCH, MCHC de 12.3%, 11.7%, 11.3%, 12.1% respectivement, et une diminution significative de MCV de 9.3% chez les souris traitées et sacrifiées après 5^{ème} jours.

Tableau 7 : Paramètres hématologiques des souris mâles témoins et traités avec la dose de 60 mg/kg d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par simple application et par voie IP et sacrifiés après 24 heures et 5 jours. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SD. * P < 0.05.

P H	RBC	HCT	WBC	HGB	PLT	MCV	MPV	MCH	MCHC
témoins	7.906	36.25	5.770	9.800	74.30	45.65	6.330	12.16	26.85
	± 0.2954	± 1.552	± 0.8958	± 0.3239	± 5.190	± 0.5510	± 0.1342	± 0.2372	± 0.4710
traité 1 j	7,595	33,61	4,610	9,440	76,30	44,53	6,530	12,64	28,27
	± 0.4657	± 2.310	± 0.5984	± 0.4852	± 13.29	± 0.8525	± 0.1126	± 0.3615	± 0.7107
traité 5j	8,780	37,33	4,986	12,11*	671,0	42,47*	7,429*	13,80*	32,53*
	± 0.2272	± 1.145	± 0.6416	± 0.2790	± 92.51	± 0.5371	± 0.2112	± 0.1759	± 0.3242

3-1-4-2-3 Etudes histologiques :

L'étude histologique du foie a montré une conservation du lobule hépatique, néanmoins des foyers de nécroses et des congestions sanguines avec des dilatations des veines centrolobulaires et des œdèmes sont observées. Des distensions des tubules rénaux, des congestions sanguines et des quelques foyers de nécrose sont aussi observés chez les souris sacrifiées après le 5^{ème} jour.

3-1-5- Toxicité subchronique chez les rats mâles (*Wistar albinos*)

3-1-5-1- Evaluation du Poids des rats mâles :

L'étude de la toxicité subchronique par les alcaloïdes commerciaux chez les rats mâles traités avec les doses de 4.02 mg/kg d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine a montré une carte clinique normale des animaux traités par rapport aux rats témoins, néanmoins des diarrhées sont observées chez les rats traités dès la 1^{ière} semaine et chute des poiles à partir de la 3^{ème} semaine. L'évolution pondérale a montré une légère diminution du poids corporel du groupe traité pendant la 2^{ème} semaine. Dans l'ensemble, les alcaloïdes commerciaux n'ont d'effet sur la croissance des animaux. Les rats témoins et traités ont présenté une évolution normale de leurs poids (Fig.27).

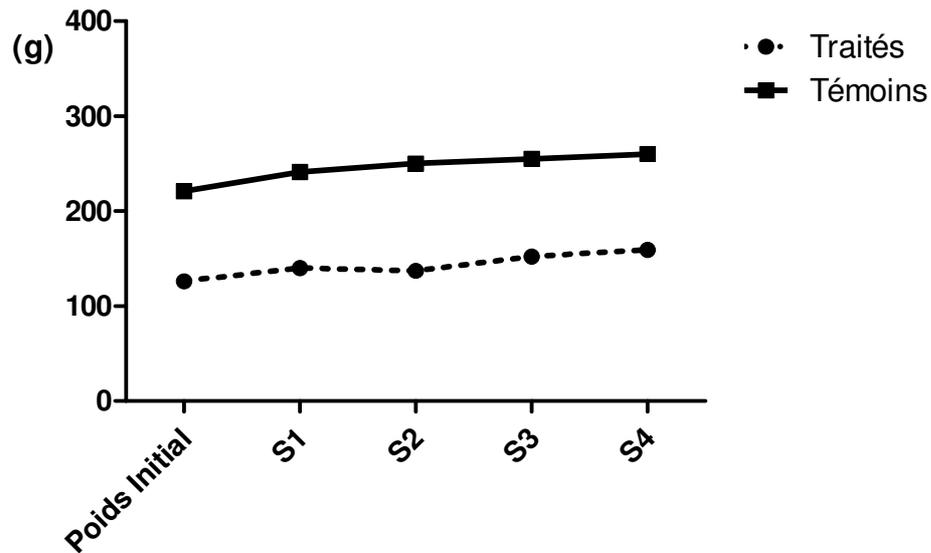


Fig.26: Evolution du poids corporelle des rats mâles témoins et traités par la dose de 4.02 mg/ kg de sulfate d’atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride par simple application et par voie IP pour 30 jours.

L’étude de la masse relative des différents organes montre une augmentation significative du foie et cerveau des rats mâles traités par rapport aux rats témoins de 15.5% et 14.07% respectivement (Tab.8).

Tableau 8 : Masses relatives des organes des rats mâles témoins et traités par les alcaloïdes commerciaux avec la dose 4.02 mg/ kg de sulfate d’atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride par simple application et par voie IP pour 30 jour.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD. * P < 0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

Les organes	Témoins	Traités
Foie	0,02943 \pm 0,003538	0,04586 \pm 0,001482***
Reins	0.006257 \pm 0.0006761	0.006793 \pm 0.0001170
Cœur	0.0035 \pm 0.0003854	0.0037 \pm 0.00008452
Cerveau	0.006986 \pm 0.0006181	0.009833 \pm 0.0004770**
Poumons	0.006571 \pm 0.0007879	0.007107 \pm 0.0003565
Rate	0.002757 \pm 0.0002785	0.00305 \pm 0.0001147
Testicules	0.01249 \pm 0.001422	0.01414 \pm 0.0005985

3-1-5-3- Etudes des paramètres hématologiques :

Les résultats obtenus illustrés dans le tableau ci-dessous, révèlent une diminution significative du nombre des globules rouges de 8.92%, de l'hématocrite 8.68%, de l'hémoglobine 8.79% (Tab.9).

Tableau9 : Etudes des paramètres hématologiques des rats témoins et traités avec la dose 4.02 mg/ kg de sulfate d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride par simple application et par voie IP pour 30 jour.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SD. * P < 0.05.

Les Paramètres Hématologiques	Témoins	Traités
VGM (Um ³)	48,1800 \pm 0.44080	46,8800 \pm 0.41360
GR (10 ⁶ /mm ³)	8,7800 \pm 0.11750	7,8360 \pm 0.27790*
HCT (%)	42,3300 \pm 0.52510	36,7500 \pm 1.44900*
PLT (10 ³ /mm ³)	762,2000 \pm 58.72000	698,3000 \pm 44.15000
GB (10 ³ /mm ³)	9,8500 \pm 1.56800	8,5670 \pm 0.78040
HGB (g/dl)	14,9200 \pm 0.20880	13,1200 \pm 0.44870*
TCMH (pg)	16,9700 \pm 0.13330	16,7600 \pm 0.13570
CCMH (g/dl)	35,2500 \pm 0.15440	35,6100 \pm 0.20020
VPM (Um ³)	6,7330 \pm 0.09888	6,8670 \pm 0.08469

3-1-5-4- Etudes des paramètres Biochimiques :

Les résultats obtenus caractérisant l'état des reins et des foies des rats témoins et traités sont représentés par les figures 27et 28. Ces données montrent une augmentation significative du glucose de 13.73% et une diminution significative de la créatinine de 8.54%, cependant aucun changement dans les paramètres caractérisant la structure et la fonction du foie ne sont enregistrés.

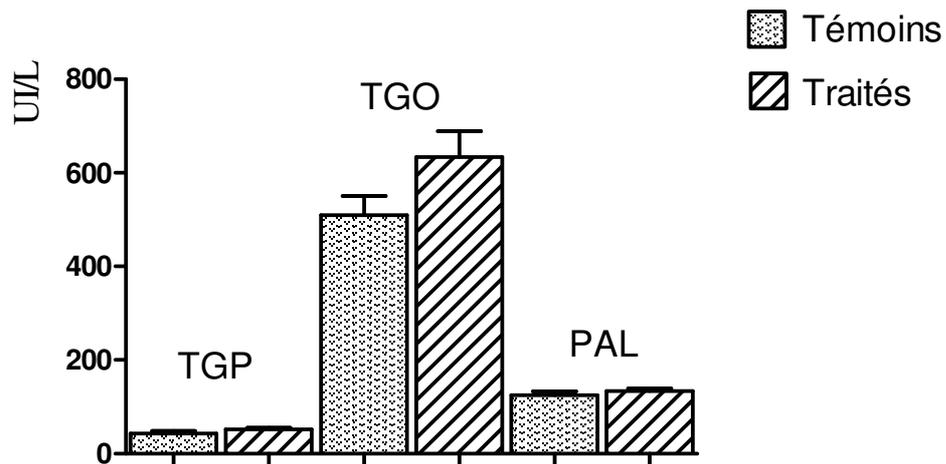


Fig.27 : Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction hépatique (TGO, TGP et PAL) des rats témoins et traités avec la dose de 4.02 mg/kg de sulfate d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride par simple application et par voie IP. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm écart type. * $P < 0.05$.

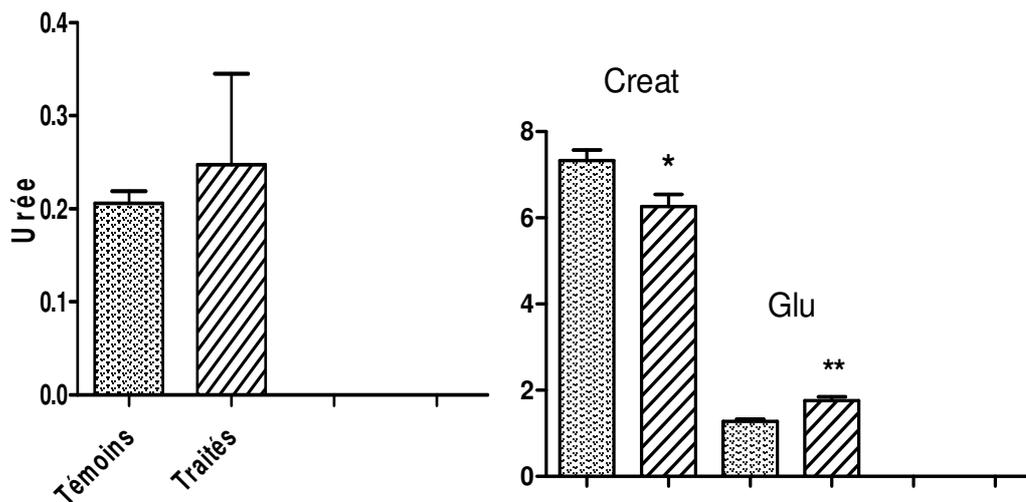


Fig.28 : Paramètres sériques de l'évaluation de la fonction rénale (Glu, Créatinine et Urée) des rats témoins et traités avec la dose de 4.02 mg/kg de sulfate d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride par simple application et par voie IP. Les valeurs sont présentées en moyenne \pm SD.

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

3-1-5-5- Etudes histologiques

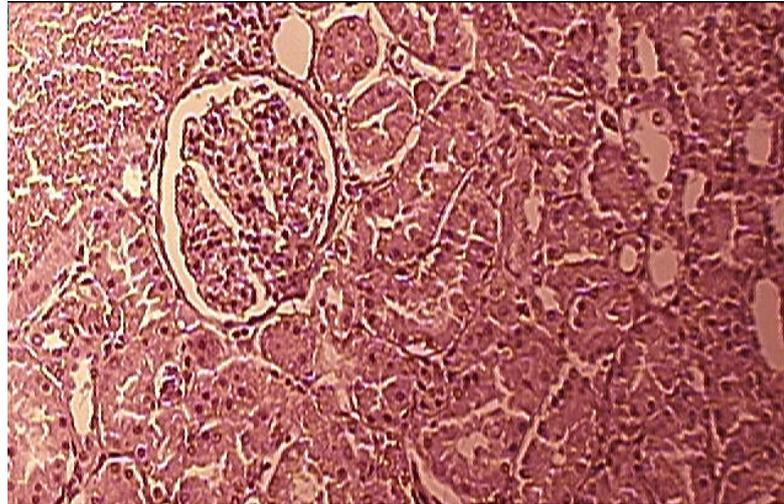


Fig. 29: Coupe histologique du tissu rénal des rats témoins. Coloration éosine hématoxyline/Grandissement X 460.

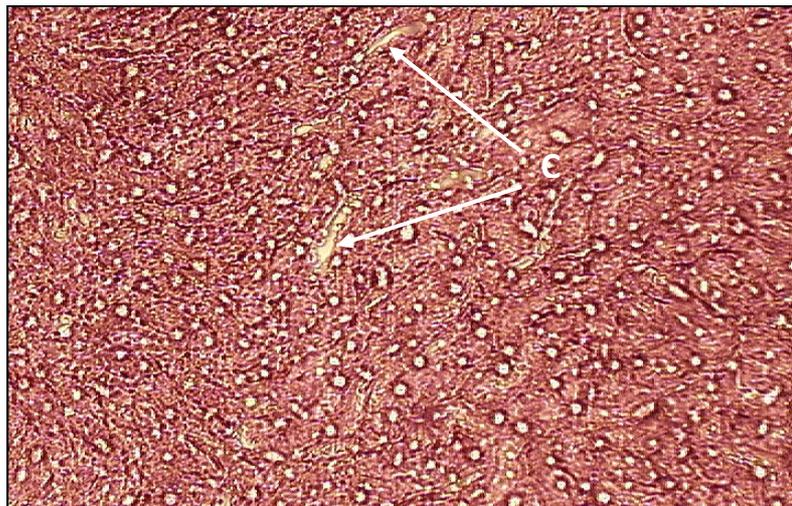


Fig.30 : Coupe histologique du tissu rénal des rats traités dans les conditions de la toxicité subchronique. Coloration éosine hématoxyline, X460. (C) Congestion.

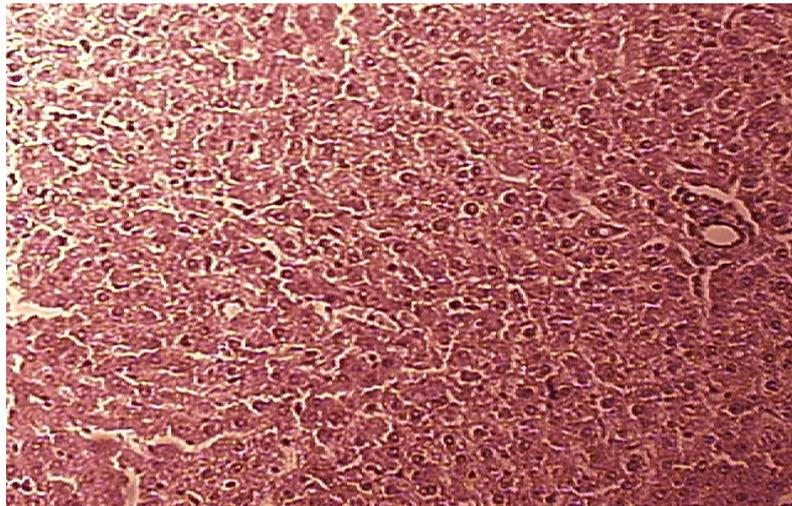


Fig. 31 : Coupe histologique du tissu hépatique des rats mâles témoins. X 460.

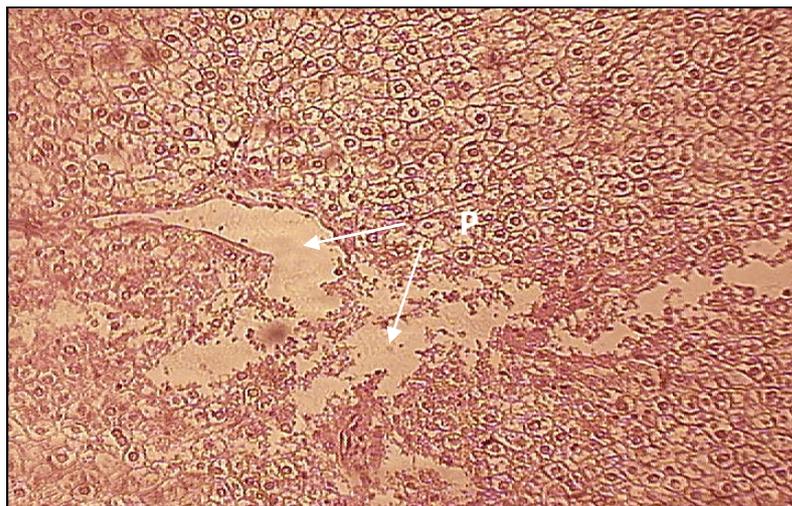


Fig.32: Coupe histologique du tissu hépatique des rats traités dans les conditions de la toxicité subchronique. Coloration éosine hématoxyline, X 460. (P) Péliose.

3-1-6 Etude de l'effet hémolytique des alcaloïdes totaux de *Datura stramonium* L in vitro

3-1-6-1 Sur les érythrocytes des rats femelles :

La courbe ci-dessous représente le pourcentage des cellules restantes en fonction de la concentration des alcaloïdes totaux (Fig.31), après incubation in vitro des globules rouges des rats femelles avec des concentrations variables d'alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L., on a observé une diminution de taux de cellules restantes en fonction de la concentration.

La concentration de l'extrait provoquant 50% d'hémolyse érythrocytaires est de 3.64 mg/ml.

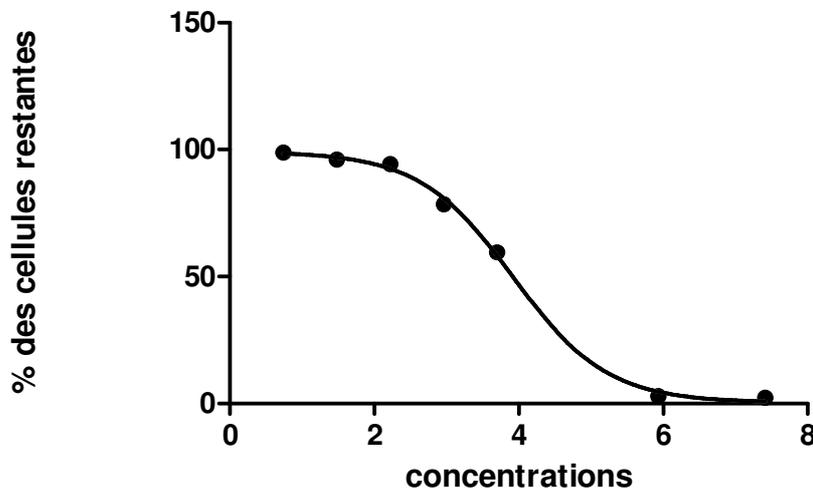


Fig.33 : Pourcentages des érythrocytes (restants) des rats femelles après traitement par des graines de *Datura stramonium* L. Les valeurs sont exprimées par les moyennes.

3-1-6-2 Sur les érythrocytes des souris mâles :

Après incubation des globules rouges des souris mâles à des concentrations variables d'alcaloïdes totaux de *Datura stramonium*, on a marqué une diminution de taux de cellules restantes en fonction de la concentration des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium*. La dose provoquant 50% d'hémolyse est de 5.65 mg/ml.

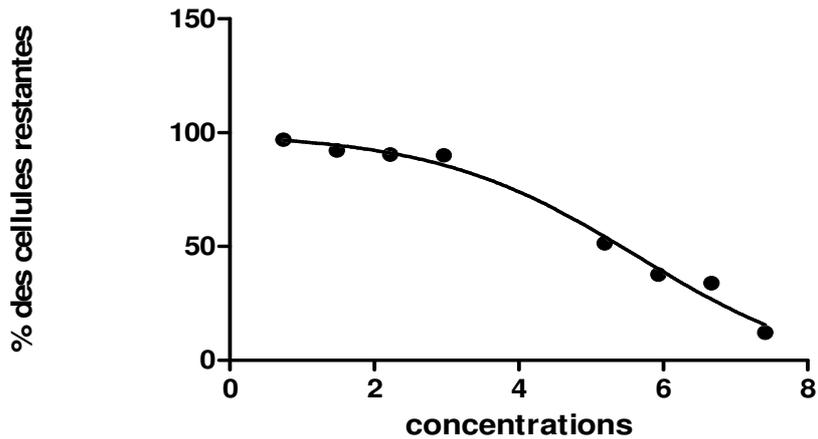


Fig.34 : Pourcentages des érythrocytes (restants) des souris mâles incubées avec les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. Les valeurs sont exprimées en moyennes.

Dans le cadre d'étude de l'effet de temps sur l'effet hémolytique des alcaloïdes totaux après 5 min d'incubation, on observe toujours l'augmentation de pourcentage des cellules hémolysés mais EC_{50} devient égale à 4,72 mg/ml.

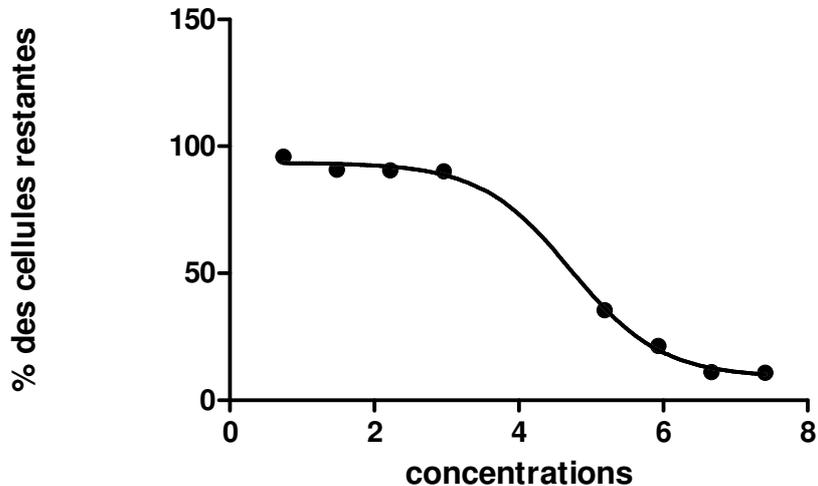


Fig.35: Pourcentages des érythrocytes (restants) des souris mâles incubées avec les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. Les valeurs sont exprimées en moyennes (après 5 min d'incubation).

3-1-6-3 Sur les érythrocytes des souris femelles

L'incubation des globules rouges des souris femelles à des concentrations variables d'alcaloïdes totaux de *Datura stramonium* L. permet d'obtenir la courbe ci-dessous (Fig.34),

on observe toujours la présence d'un effet hémolytique en fonction de la concentration. La dose provoquant 50% d'hémolyse est de 4,971 mg/ml.

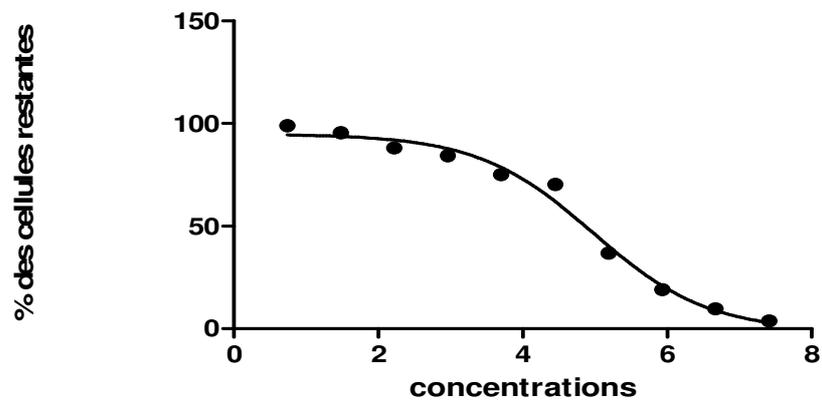


Fig.36 : Pourcentages des érythrocytes (restants) des souris femelles après traitement par des graines de *Datura stramonium* L. Les valeurs sont exprimées par les moyennes.

3-2 Discussions

La plante de *Datura stramonium* L. utilisée, est identifiée sur la base de la description des caractéristiques morphologiques de la plante (Bruneton, 1999 ; Quazel et Santa, 1963).

L'analyse de l'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. par CCM sur gel de silice a permis de mettre en évidence la présence de deux spots, dont un est nettement plus important que l'autre, et correspondant à l'atropine et le deuxième correspond à la scopolamine. L'analyse qualitative et quantitative par HPLC confirme la présence de ces deux alcaloïdes, atropine et scopolamine avec un taux respectivement 6 mg/100g de graines et 2mg/100mg de graines, soit 3/4 d'atropine et 1/4 de scopolamine ; ces résultats concordent avec ceux rapportés par Henri *et al.*, (2004) et Miraldi *et al.*, (2001).

La carte clinique des rats mâles et femelles traitées par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. lors de l'étude pour la détermination de la DL₅₀ s'est caractérisée par une apparition relativement rapide des symptômes, due à la rapidité d'absorption des alcaloïdes(atropine et scopolamine) du *Datura stramonium* (Hardaman *et al.*,1998), incluant une accélération du rythme cardiaque due probablement a un blocage de récepteurs muscariniques M₂ conduisant à une suppression du tonus vagal (Kenneth, 2001), une difficulté respiratoire , et des fortes agitations et des convulsions par l'atteinte de système nerveux central (blocage de la production de l'acétylcholine dans les synapses du système nerveux central) (Gouille *et al.*, 2004). Les convulsions sont efficacement induites par l'atropine et la scopolamine ; et le mécanisme par lequel arrivent ces convulsions pourrait être attribué à l'activité antagoniste des alcaloïdes atropine et scopolamine sur les récepteurs muscariniques, particulièrement M₂ (Enginar *et al.*, 2005). Les animaux meurent généralement par arrêt respiratoire associé à des convulsions, alors que les animaux survivants retrouvent une apparence normale.

Ces signes cliniques observés étaient caractéristiques d'une stimulation de système parasympathique.

La symptomatologie observée (tachycardie, agitation, difficulté respiratoire) chez les rats traités par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. est similaire à celle observée par Deachy (1997), Tannis (2007) et Fretz *et al.*, (2007) chez des personnes hospitalisées après ingestion des graines de *Datura*, et Djibo *et al.*, (2000) chez des patients hospitalisées après avoir fumé des cigarettes à base de fleurs séchées de *datura*, et consommés une infusion de thé associée à des graines de la plante.

L'étude de la toxicité aiguë pour déterminer la DL₅₀ chez les rats mâles et femelles traités par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. a permis de calculer les valeurs des DL₅₀ 303 mg/kg pour les rats mâles et de 203 mg/kg pour les rats femelles, en utilisant la méthode de BAHRENS.

D'après cette études, les rats mâles paraissent résistants que les rats femelles aux alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. La sensibilité des femelles est lié au sexe, l'étude de Dugan *et al.*, (1989) effectuée sur des rats mâles et femelles soumis à un régime alimentaire associé à des graines de *Datura stramonium* L. montre que les rat femelles sont plus sensibles que les rats mâles.

Selon les DL₅₀ obtenues, comprises entre 50 mg/kg et 500 mg/kg, l'extrait des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. est classé dans la catégorie des produits les plus toxiques selon Frank, (1992).

Dans les conditions de la toxicité aiguë des rats mâles traitées avec la dose 100 mg/kg, et après 24 heures et 5 jours, aucun signe clinique de toxicité, et aucun effet léthal n'ont été observés. Alors que la masse relative a enregistré une augmentation significative après le 1^{ier} et le 5^{ème} jour pour les reins et celle des testicules après le 5^{ème} jour. Les masses relatives des autres organes n'ont pas montré de changements significatifs.

Il est évident que l'altération hépatique est due à une fuite des enzymes cellulaire dans le plasma. Quand les membranes plasmiques des hépatocytes sont endommagées, une variété d'enzymes normalement localisés dans le cytosol, sont libérés dans le sang. Leurs estimations dans le sérum sont utilisées comme des marqueurs pour mesurer l'endommagement des hépatocytes (Kumaret *al.*, 2004 ; Witthawaskul *et al.*, 2003).

L'urée et la créatinine restent des paramètres séméiologiques pour établir un diagnostic sur la fonction rénale (El Hilaly *et al.*, 2003 ; Serge, 1985).

Sur le plan biochimique, la toxicité aiguë est associée à une altération significative de quelques paramètres biochimiques clés incluant l'urée et le glucose après le 1^{ier} et le 5^{ème} jour. Les résultats montrent clairement l'augmentation significative de sodium surtout après 5^{ème} jour. Cet effet est probablement dû aux effets directs des alcaloïdes et de leurs métabolites sur les cellules rénales. Ceci pourrait être expliqué par une métabolisation et une excrétion lentes des alcaloïdes et de leurs métabolites après l'atteinte rénale.

Cette augmentation de l'urée pourrait être expliquée par une augmentation de la dégradation des composés protéiques, mais aussi par une atteinte de la fonction rénale. Des résultats similaires des travaux sur les porcs ont été rapportés par Piva *et al.*, (1997) ; et une

insuffisance rénale probablement fonctionnelle était notée (urée et créatinine élevées) par Montériol *et al.*, (2007) chez une personne qui s'est intoxiquée volontairement avec le *Datura*.

Il est probable que les alcaloïdes totaux du *Datura stramonium* à fortes doses, particulièrement l'atropine et la scopolamine, ont un impact direct sur la fonction rénale.

Les études hématologiques montrent une altération de quelques paramètres hématologiques, une augmentation significative de la teneur corpusculaire et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ce résultat concorde avec celui de Dugan *et al.*, (1989), ainsi une élévation de volume globulaire moyen, alors on a enregistré une diminution significative de l'hémoglobine, des globules blancs, des plaquettes et de volume plaquettaire, des résultats similaires ont été signalés par Diker *et al.*, (2006) chez une personne hospitalisée après avoir consommé du thé à base de *Datura*.

Les coupes histologiques ne montre aucun changement de la structure de foie, il est probable que le rat élimine rapidement les alcaloïdes du *Datura stramonium*, au niveau des reins des nécroses et des dommages glomérulaires notables.

Chez les souris mâles traitées par simple application avec les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium*, avec la dose de 60 mg/kg et par voie intrapéritoniale, sacrifiés après le 1^{ier} et le 5^{ème} jour de l'application aucun signe clinique de toxicité et de mortalité n'ont été enregistrés. Une diminution de la masse relative de cerveau des souris est notée après le 5^{ème} jour, ces résultats concordent avec l'étude de Kara (2008) chez les rats mâles dans les conditions de la toxicité aiguë. Une diminution significative du poumon a été enregistrée aussi chez ces souris.

Les alcaloïdes totaux ont des effets hyperglycémiques chez les deux espèces rats et souris et ceci après le 1^{ier} et 5^{ème} jour chez les rats et après le 5^{ème} jour chez les souris. Ces résultats ne vont pas en direction avec ceux trouvés chez les hommes hospitalisés par Barguil *et al.*, (2006), suite des intoxications par le *Datura stramonium*.

L'étude hématologique montre une augmentation significative en hémoglobine et sa teneur corpusculaire, sa concentration corpusculaire moyenne, ainsi qu'une augmentation significative du volume plaquettaire moyen.

L'étude de la toxicité aiguë des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* montre que les souris mâles plus sensibles que les rats mâles.

L'altération des paramètres biochimiques des souris mâles traités par les alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* par rapport à ceux des témoins sont confirmés par congestion du parenchyme rénale et une distension de certains canaux rénaux ainsi des foyers de nécrose sont observés au niveau du foie et des reins.

Dans l'étude de la toxicité subchronique chez les rats mâles traités par les alcaloïdes commerciaux avec la dose de 4.02 mg/kg de sulfate d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride (les concentrations dans 100 mg d'alcaloïdes totaux trouvés par Kara, 2008), par simple application et par voie IP.

La carte clinique s'est caractérisée par des diarrhées dès la 1^{ère} semaine et de chute des poils dès la troisième semaine ; la présence des diarrhées chez les rats est en accord avec les travaux de Kara (2008) et de Benouadah (2009).

Dans l'ensemble, le poids corporel n'a pas connu de changement notable. La courbe d'évolution a montré une allure similaire chez les rats traités et témoins, ceci concorde avec les travaux de Gidado *et al.*, (2007) et Crawford et Friedman (1990). Les masses relatives du foie et de cerveau ont montré une augmentation ; ces résultats sont proches de ceux trouvés par Mehdeb (2002).

Les paramètres biochimiques caractérisant la fonction rénale et hépatiques chez les rats mâles traités avec les alcaloïdes commerciaux, dans les conditions de la toxicité subchronique n'ont pas montré de changements significatifs. Ceci pourrait être dû à une métabolisation et une élimination rapide des alcaloïdes par l'organisme animal. Toutes fois une augmentation significative du glucose et d'une diminution significative de la créatinine ont été observées. Ceci pourrait être dû à l'effet hyperglycémiant des alcaloïdes tropaniques.

Les résultats hématologiques montrent des changements dans le paramètre hématologique lié à la toxicité subchronique et l'administration des alcaloïdes commerciaux (atropine et scopolamine) par voie IP chez les rats mâles. On a observé une diminution significative en hémoglobine et hématocrite cela concorde avec les résultats de Benouadah, (2009) et Kara, (2008), ainsi une diminution significative de nombre des globules rouges évalué après 4^{ème} semaines de traitement, cela pourrait être due à une hémolyse provoquée par les alcaloïdes, ceci est confirmé par des tests d'hémolyse *in vitro*.

Ces changements hématologiques suggèrent une déshydratation, due à l'action pharmacologique de l'atropine connue pour sa production de la soif et de la sécheresse buccale (Dugan *et al.*, 1989).

Les modifications histopathologiques observé du foie sont caractérisées par la présence de quelques pélioses, perturbant la circulation sanguine à l'intérieur du tissu hépatique ; de quelques foyers de cellules nécrosées. Ceci est en conformité avec les paramètres hématologiques et biochimiques étudiés.

L'observation des coupes histologiques des reins des rats traités par rapport aux témoins a permis d'observer quelques congestions du parenchyme rénal et quelques nécroses des cellules des tubules distaux et des glomérules des rats traités dans les conditions de toxicité subchronique.

Ces changements mineurs observés, n'ont pas un effet sur la structure et la fonction hépatique et rénale des rats traités dans les conditions de toxicité subchronique avec les doses 4.02 mg/kg de sulfate d'atropine et de 2.01 mg/kg de scopolamine hydrochloride.

Conclusions

Sur la base des données bibliographiques et expérimentales, nous sommes arrivés aux conclusions suivantes :

- ✚ Datura est une plante toxique chez l'homme et les animaux, cela est dû aux alcaloïdes majoritaires (atropine et scopolamine), ayant un effet parasympholytique.
- ✚ L'analyse qualitative et quantitative des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. confirment la présence d'atropine et scopolamine avec les taux de 6 mg et de 2 mg respectivement.
- ✚ Les calculs de la DL₅₀ chez les rats mâles (303 mg/kg) et chez les rats femelles (203 mg/kg) permettent de classer les alcaloïdes tropaniques des graines de *Datura stramonium* L. dans la catégorie des produits fortement toxique.
- ✚ Les études de la toxicité aiguë des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. montrent que les souris sont plus sensibles que les rats.
- ✚ La toxicité subchronique des alcaloïdes totaux des graines de *Datura stramonium* L. montre une baisse significative des globules rouges, d'hématocrite et d'hémoglobine.
- ✚ L'effet des alcaloïdes totaux sur le sang des rats et des souris montre qu'il a un effet hémolytique.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

1. **Abbara C.** 2009. Modélisation appliquée à la pharmacénitique de molécules médicamenteuses indiquées en prévention ou en traitement d'atteintes neurologiques chez l'homme. *Thèse de Doctorat*.
2. **Abdulwahid A.** 2000. *Thèse" The effect of water deprivation and Atropine administration on Gastro-Intestinal function in Goat"*.
3. **Aboul-Enein. H. Y., Agbakwuru. O. P., Cheng S. Z., Elis. J., Hag O., Hartke. K., Indemans. M. W. A., Jan. A. Z., Lechado. M. T., Ng Tju L., Neiminen. E., Olaniyi. A. A., Pabrai. P. R., Parrak. V., Pesez. M., Schwartzman. G., Sara Sota., Sethi. D., Sharma. S. C., Smits. M. H., Tu Guoshi., Vernango. M., Vukusie. I., Weiniawski. W., Yang Z. Y.** 1992. Testes simplifiés pour les préparations pharmaceutiques. 21-22.
4. **Aehle E. et Dräger B.** 2010. Tropane alkaloid analysis by chromatographic and electrophoretic techniques: An update. *J. Chromat. B.* 878:1391–1406.
5. **Alaa G.M. O., Mostafa K., Alaa E., Sayed H.** 2010. Use of hematological parameters to assess the efficiency of quince(*Cydonia oblonga* Miller) leaf extract in alleviation of the effect of ultraviolet –A radiation on African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *J. Photochemist. and Photobiol. B.* 99:1–8.
6. **Aleriza I., Mohamed A. O., Ahmed M.** 2006. Distribution of atropine and scopolamine in differentorgans in *Datura stramonium* L. (Solanaceae). Structure and ultrastructure of biosynthesizingcells. *Acta biologica cracoviensia SeriesBotanica.* 48: 13–18.
7. **Alexander J., Benford D., Cockburn A., Cravedi J. P., Dogliotti E., DiDomenico A., Féranandez-Cruz M. L., Furst P., Fink-Gremmels J., Lodovico G. C., Grand J. P., Gzyl J., Heinemeger G., Johansson N., Mutti A., Schlatter J., Van Leluwen R., Van Peteghem C., Verger P.** 2008. Tropane alkaloids from *Datura* sp as undesirable substances in Animal feed. *Scientific Opinion of the Panel on Contamination in the food Chain*, pp 1-55.
8. **Aliasgharpour. M., Hekmet Shoar. H., Hosseyini M. S.** 2000. Stigma of *Datura stramonium* L. (Solanaceae): Histogenesis, morphology and developmental anatomy. *J. Sci. Iran.* 11, N°. 4.
9. **Allain P.** 1999. *Pharmacologie des médicaments*, CdM Edition.
10. **Allain P.** 2004. *Les médicaments 3èmes éditions*.
11. **Ana M. B., Adriana Q., JozéAlfrido R., Ignacio M. M., Vitor M. L.V.** 1998. Growth patterns and alkaloid accumulation in hairyroot and untransformedroot cultures of *Datura stramonium*. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 54: 123–130.
12. **Arias I. M., Harvey J. A., James L. B., David E. C., Nelson Fa., David A. S., Allan W. W.** 2009. *The Liver Biology and Pathobiology Fifth Edition*; ISBN: 978-0-470-72313-5.
13. **Aroukou H., Matray D.M., Bragança C., Mpaka J.P., Chinella L., Castaing F., Bartou C., Poisot D.** 2003. L'intoxication volontaire par l'ingestion de *Datura stramonium*. *Ann. Med. Interne.* 154 : 1S46-1S50.

Références bibliographiques

14. **Arroo R., Woolley J., Oksman-Caldentey K.M.** 2007. II.3 Henbane, Belladonna, Datura and Duboisia. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, Vol. 61.
15. **Artaud. C. R., Langdon K. R.** 1977. Datura sp. : weed, ornamental, drug, poison ; with a bizzaremedicalhistory. *Nematology (botany) circular N° : 25*.
16. **Baiza A M., Adriana Q., Jozé A R., Maldonado-Mendoza I and Loyola-Vargas V M.** 1998. Growth patterns and alkaloid accumulation in hairy root and untransformedroot cultures of *Datura stramonium*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 54: 123–130.
17. **Bégué J.M.** 2010. Physiologie Rénale 1^{ère} Partie., CHR & Faculté de Médecine de Rennes Service de Physiologie Médicale/Explorations Fonctionnelles.
18. **Benoit B.** 2000. Tela botanica ; base de données, nomenclature de la flore de France. BDNFF vol 4.02.
19. **Benouadah, Z.** 2009. Etude de l'effet de la toxicité du Datura stramonium L. sur le rein du rat blanc (*Albinos Wistars*). *Mémoire de Magistère*. Université de Constantine.
20. **Benslimani. N., Khelifi-Slaoui. M., Lassel. A., Khiar. H., Djerrad. A., Mansouri.B., Khelifi. L.** 2011. In Vitro Radiosensitivity Study of Datura Sp Seeds for Increased Alkaloid-producing Mutant Lines. *Advances in Environmental Biology*, 5(2): 381-393.
21. **Binukumar B.K., Amanjit B., Ramesh K., Aditya S., Kiran D.** 2010. Mitochondrial energy metabolism impairment and liver dysfunction following chronic exposure to dichlorvos. TOX-50520; No. of Pages 8.
22. **Birmes P., Chounet V., Mazerolle M., Cathala B., Schmitt L., Lauque D.** 2002. Intoxication volontaire par le Datura Stramonium, *Presse Med.* 31 : 69-72.
23. **Blanchard A., Rosa P., Pascal H.** 2008. Exploration des fonctions tubulaires rénales. *Néphrol. Thérapeut.* 5: 68-83.
24. **Boris M.** 2001. Intoxication des animaux domestiques par les plantes de la famille des Solanacées.thèse de Doctorat.
25. **Bouzidi A., Mahdeb N., Allouche L., Houcher B.** 2002. Etudes épidémiologiques sur les plantes toxiques dans les régions de Sétif et Bordj Bou Arreridj. Algérie. *Bull. inform. Toxicol.* 18 : 5-10.
26. **Bruneton J.** 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition. Paris, pp. 647-673.
27. **Chan K.** 2002. Jimson Weed poisoning – A Case Report. *The permanente* 6: 28-30.
28. **Chung L. Y., Yap K. F., Goh S. H., Mustafa M. R., Imiyabir Z.** 2008. Muscarinic receptor binding activity of polyoxygenated flavones from *Melicope subunifolialata*.
29. **Chwalek M.** 2004. Thèse de Doctorat sur Hémisynthèse des saponosides à hédéragénine. Etude de l'influence de la chaine osidique sur l'activité hymolytique.
30. **Clair P., Lallement G., Rousseau J. M.** 2004. Intoxication par les neurotoxiques organophosphorés. Auto traitement d'urgence.
31. **Cretton S.** 2009. Investigation phytochimique d'espèces du genre Schizanthus et recherche d'activité antiparasitaire dans des plantes d'Amérique du Sud. Thèse de doctorat. Université de Genève.

Références bibliographiques

32. **Cromwell B. T.** 1943. Studies on the Synthesis of Hyoscyamine in *Atropa belladonna* L. and *Datura stramonium* L.37 : 717-722.
33. **Dahmani O., Belcaid A., Elazzouzi O., Elhami H.** 2010. Physiologie renale : role du rein dans l'équilibre acido-base.
34. **Dangoumau J., Moore N., Molimard M., Fourrier A. R., Latry K., Horamburu F., Chada M.S., Titier K.** 2006. Pharmacologie générale, édition de 2006, pp 174.
35. **Dangoumau J., Nicholas M., Mathieu M., Annie F.R., Karin L., Françoise H., Ghada M.S., Karine T.** 2006. Pharmacologie générale. ISBN N° 2-909176-24-X. pp 248-268.
36. **Déborah O.,** Anatomie et physiologie Anatomie et physiologie du Foie et des Voies du Foie et des Voies Biliaires., 2010.
37. **Desachy A, Froïçois B, Vignon P, Roustan J, Gay R.** 1997. Une intoxication rare au *Datura stramonium* A propos de deux cas. Réan Urg. 6 : 51-53.
38. **Deugnier Y.** 2005. Anatomie - physiologie du foie.
39. **Djibo A., Bouzou S.B.** 2000. Intoxication aiguë au ' 'sobi-lobi' ' (*Datura*).A propos de quatre cas au Niger.
40. **Dräger B.** 2002. Analysis of tropane and related alkaloids. J. Chromat. A. 978: 1–35.
41. **Dugan G. M., Gumbmann M. R., Mendel Friedman.** 1989. Toxicological evaluation of Jimson weed (*Datura stramonium*) seed. Food Chem.Toxic.27 : 501-510.
42. **Eaton Douglas C., Pooler J. P.**2009. Vander's renal physiology 7th edition.
43. **El Hilaly J, Israili ZH, Lyoussi B.** 2003. Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. J. ethnopharmacol. 91:43-50.
44. **Enginar N., Nurten A., Yamanturk P., Açikmese B.** 2005.Scopolamine-induced convulsions in fasted mice after food intake: Effects of glucose intake, antimuscarinic activity and anticonvulsant drugs. Neuropharmacology. 49: 293-299.
45. **Fourasté. I.** 2000. Rappel de la toxicité de quelques plantes, Rev. Franç. Laborat. 323 : 51-55.
46. **Frank C.LU.** 1992. Toxicologie, Données générales procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque. Paris pp 73- 202.
47. **Fretz R., Schmid D., Brueller W., Girsh L., Pichler A. M., Riediger K. S. M., Allerberger. F.** 2007. Food poisoning due to Jimson weed mimicking *Bacillus cereus* food intoxication in Austria, pp 557-558.
48. **Garnier R., Saviuc P., Sinno-Tellier S.** 2010. *Datura stramonium* : potentiel d'abus et de dépendance Mise à jour des données des CEIP-A et des CAPTV. Version 6. Comité de coordination de toxicovigilance.
49. **Geeta R., Ghariabeh W.** 2007. Historical evidence for a pre-colombian presence of *Datura* in the old world implication for a first millennium transfer from the new world. J. Biosci. 32: 1227-1244.
50. **Gidado A., Zainab A.A., Hadiza M.U., Serah D.P., Anas H., Milala M. A.** Toxicity studies of ethanol extract of the leaves of *Datura stramonium* in rats. African Journal of Biotechnology Vol. 6 (8), pp. 1012-1015, 16 April 2007.
51. **Gouille J.P., Pepin G., Dumestre-Toulet V., Lacroix C.** Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes : belladone, datura, jusquiame, mandragore. Annales de toxicologie analytique ISSN 0768-598X . vol. 16, no 1, pp. 22-35.

Références bibliographiques

52. **Hall David W., Vernon V., Jason A. F.** 2009. Jimson weed, *Datura stramonium* L. sp37.
53. **Hardman JG., Limbird LE., Molinoff PB., Ruddon RW., Gilman AG.** 1998. Les bases pharmacologiques de l'utilisation des médicaments. 9ème Ed. McGraw-Hill. London.
54. **Hayman J.** 1985. Datura poisoning- The angel's trumpet. Pathology. 17: 465-466.
55. **Hélaridot D., Berl M., Rébillon M., Roussely B.** 2006. Guide concours infirmier(e) anesthésiste Spécialisation santé. 3ème édition Masson. Paris.
56. **Henri A., Marie-Dominique M., Coralie B., Jean-Pierre M., Laure C., Françoise C., Cristhine B., Daniel P.** 2003. L'intoxication volontaire par l'ingestion de *Datura stramonium*. Ann. Med. Interne. 154, Hors –Série 1, 1S 46-50.
57. **Hmamouchi M.** 1989. Plantes Alimentaires, Aromatiques, Condimentales, Médicinales et Toxiques au Maroc.
58. **Houghton P. J., Raman A.** 1998. Laboratory Hand book for Fractionation of Natural Extracts. 1^{ère} éd. Chapman et Hall, Londres.
59. **Houmani Z.** 1994. Effet de séchage sur la composition en alcaloïdes tropaniques d'une plante médicinale : *Datura stramonium* L. Thèse de Magistère.
60. **Ignacio E. M.M., Teresa D. R. A.T., Victor M. L.V.** 1993. Establishment of hairy root cultures of *Datura stramonium* "Characterization and stability of tropane alkaloid production during long periods of subculturing". Plant Cell, Tissue and Organ Culture 33: 321-329.
61. **Ignacio E. M.M., Teresa D. R. A.T., Victor M. L.V.** 1992. Tropane alkaloid production in *Datura stramonium* root cultures. In Vitro Cell. Dev. Biol. 28P:67-72, April 1992.
62. **Ignacio E. M.M., Victor M. L.V.** 1995. Establishment and characterization of photosynthetic hairy root cultures of *Datura stramonium*. Plant Cell, Issue and Organ Culture 40: 197-208.
63. **Iman M. A., Maher Y. A., Noor H. M., Esam Y. Q., Fuad A.A.** 2009. Datura Aqueous Leaf Extract Enhances Cytotoxicity via Metabolic Oxidative Stress on Different Human Cancer Cells. 2: 9 – 14.
64. **Iranbakhsh A.R., Oshaghi M.A., Majd A.** 2005. Distribution of atropine and scopolamine in different organs and stages of development in *Datura stramonium* L. (Solanaceae). Structure and ultrastructure of biosynthesizing cells. 13-18.
65. **Iranbakhsh A.R., Oshagi M.A., Ebadi M.** 2007. Growth and production optimization of tropane alkaloids in *Datura stramonium* cell suspension culture. Pakistan J. Biol. Sci. 10: 1236-1242.
66. **Irwin R., David M., Rebecca M., Charles D., Robyn G., Diana G., Christina H., Paula M., David M., Stephen M., Gregory T., Jeb W.** 2004. Atropine use in children after nerve gas exposure. INFO. BRIEF. vo1, N° 1.
67. **Jaffary F.** 2004. Therapeutics Initiative, Vancouver, Canada.
68. **Jiao M., Luna-Cavazos M., Bye R.** 2002. Allozyme variation in Mexican species and classification of *Datura* (Solanaceae). Plant Syst. Evol. 232: 155–166.

Références bibliographiques

69. **Jouve C.** 2009. Contribution à l'élaboration d'un site internet de Toxicologie végétale chez les ruminants : Monographie des principales plantes incriminées d'après les données du CNITV. Thèse de Doctorat. pp 100-105.
70. **Jouzier E.** 2005. Solanacées médicinales et philatélie, pp 311-332.
71. **Julve P.** 1998. Baseflore Index botanique, écologique et chronologique de la flore de France.
72. **Kara N.** 2008. Toxicité de *Datura stramonium* chez les animaux d'élevage : Enquête et expérimentation sur les animaux de laboratoire. Mémoire de magister . Université de Sétif
73. **Kenneth J.B., Kelly D.R.** 2001. Review: Muscatine Receptor Agonists and Antagonists. *Molecules*. 6: 142-193.
74. **Kirchhoff C., Bitar Y., Ebel S., Holzgrabe U.** 2004. Analysis of atropine, its degradation products and related substances of natural origin by means of reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromat. A*. 1046: 115–120.
75. **Klein-Schwartz W., Odera G. M.** 1984. Jimson Weed Intoxication in Adolescents and Young Adults. *AJDC*. 138: 737-739.
76. **Koolman J., Klaus-Heinrich R.** 2002. Atlas de poche de biochimie. Flammarion Médecine- Sciences. 3ème éd. Paris. pp.326- 327.
77. **Kumar G., Sharmila B., Vanitha P.P., Sundararajan M., Rajasekara P. M.** 2004. Hepatoprotective activity of *Trianthema portulacastrum* L. against paracetamol and thioacetamide intoxication in albino rats. 92: 37-40.
78. **Kuncova J., Faitova S., Copouch J., Stengl M., Slavinkova J.** 2008. Chronic Atropine administration diminishes the contribution of vasoactive intestinal polypeptide to Heart rate regulation. *Physiol. Res*. 57: 827-837.
79. **L'Azou B.** Physiologie Rénale et modèles In Vitro. GEPPR : Groupe d'étude de Physiologie et de Physiopathologie Rénales. UFR Pharmacie., 2007.
80. **Lambert ., Armand C., Dufrenoy E., Gibaja V.** 2004. Bulletin Régional sur la pharmacodépendance. CEIP du Nord Est, CHU, Nancy. Bulletin n°5.
81. **Lanchamp J. P.** 2000. Unité de Malherbologie et agronomie, JNRA-Dijon.
82. **Lapostolle F., Flesh F.** 2006. Particularités des nouvelles drogues. *Réan.* 15 ; 412-417.
83. **Laurent F., Florence R., Pascal A., Catherine B., Louis M., Philippe L.** 2008. Les médicaments de l'urgence médicale au cabinet dentaire. n° 21.
84. **Lazzarini D., Baffoni M.T., Cangiotti C., Gaetano D.F., Gerboni S., Micheli R., Morelli S., Luca M., Giorgio I.** 2006. Food poisoning by *Datura stramonium*: an unusual case report. *Intern Emerg Med*. 1: 88-89.
85. **Lee A. M., Jacoby D. B., Fryer A. D.** 2001. Selective muscarinic receptor antagonists for airway diseases. 1: 223-229.
86. **Levitt J., Lovett J.V.** 1984. Actevity of allelochemicals of *Datura stramonium* L. (Thorn-apple) in contrasting soil types.
87. **Li P., Yunping Q., Tianlu C., Jinchao L. Y., Mingming S., Aihua Z., Wei J.,** An optimized procedure for metabonomic analysis of rat liver tissue using gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry. 2010. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.* 52: 589–596.

Références bibliographiques

88. **Liaquat A., Mahmood A.** 2004. Cardiac arrest following the neuromuscular blockade reversal with neostigmine and atropine. 11: 228-230.
89. **Limdiand J.K., Hyde G.M.** 2003. Evaluation of abnormal liver function tests. Wythenshawe Hospital, South Manchester University Hospitals NHS Trust, Wythenshawe, Manchester.
90. **Louise A., Vicky S.** 2007. Atropine occlusion: Instillation of drops/ Ointment.
91. **Magali C., Se`bastien D., Patrice C.** 2008 Lesions élémentaires des glomérules chez l'adulte. Néphrol. Thérapeut. 4 : 617—627.
92. **Mahdeb N.** 2002. Etudes toxiques du *Datura stramonium* L. Effet de l'extrait des feuilles sur le cerveau et le foie des rats. Mémoire de Magistère. Université Farhat Abbas Sétif.
93. **Mahmoud M.B., Ibrahim W. L., Abou-El-Nour B. M., El-Emam Mohamed A., Youssef A.A.** 2011. Biological and biochemical parameters of *Biomphalaria alexandrina* snails exposed to the plants *Datura stramonium* and *Sesbania sesban* as water suspensions of their dry powder. Pest. Biochemist. Physiol. 99: 96–104.
94. **Maphosa V., Masika P.J., Moyo B.** 2010. Toxicity evaluation of the aqueous extract of the rhizome of *Elephantorrhiza elephantina* (Burch.) Skeels. (Fabaceae), in rats. Fd Chem. Toxicol. 48: 196–201.
95. **Marchall W.J., Bangert S.K.** (2004) .Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic. 5^{ème} éd. Paris, Elsevier.
96. **Maria L. A., Virginia A., Victoria L., Montsera B., Juan J. S., José L. D., Domènec J. Sánchez,** Effects of exposure to BDE-99 on oxidative status of liver and kidney in adult rats. TOX50546 1–6. 2010.
97. **Marwat. S., Urrehman F., Khan S.** 2005. Germination of seeds of *Datura stramonium* L. under different condition (Temperature and Soil). 21: 45-49.
98. **Masanori N., Masaki O., Toshiaki N., Yuji I., Takao A., Jun H.** 2005. Uniformly sized molecularly imprinted polymer for atropine and its application to the determination of atropine and scopolamine in pharmaceutical preparations containing *Scopolia* extract. 37: 231–237.
99. **Massé C.,** physiologie du rein, Laboratoire de Physiologie Faculté de Médecine-Montpellier., 1^{er} Cycle – MI4., 2008.
100. **Mathias. B.F.** 2006. Jimson Weed (*Datura stramonium*) Exposures in Texas, 1998-2004. J. Toxicol. Envir. Health. 69: 1757-1762.
101. **Matthias E., Thomas W., Sabina B., Willy M., Patricia B.H.** 1999. The effect of sewage plant effluent on brown trout (*Salmo trutta fario*): a cage experiment. Aquat.sci.61: 93–110.
102. **Maximov O.B., Pantiukhina L.S.** 1965. Thin-layer partition chromatography of benzenecarboxylic and hydroxybenzenecarboxylic acids. J. Chromat. 20 :160-162.
103. **Miraldi E., Masti A., Ferri S., Barni C.I.** 2001. Distribution of hyosciamine and scopolamine in *Datura stramonium*. Fitoterapia. 72: 644-648.
104. **Mirzamatov R. T., K. L. Lutfullin.** 1986. Dynamics of the accumulation of alkaloids in *Datura stramonium*. No. 3, p.
105. **Mirzamatov R. T., Malikov V. M., Lutfullin K. L., Yunusov S. Y., Soedin Khim P.** 1972. Dynamics of the accumulation of alkaloids in *Datuar stramonium* L., pp 493.

Références bibliographiques

106. **Monteriol A., Kenane N., Delort G., Asencio Y., Palmier B.** 2007. Intoxication volontaire par le *Datura Stramonium* : une cause de mydriase mal connue. Ann. Franç. Anesth. Réanim. 26 : 810-813.
107. **Mud S. H.** 2005. Toxins and Poisons Mechanism²s of action.
108. **Nadana S., Namasivayam N.** 2008. Hemidesmus indicus Protects against ethanol-induced liver toxicity. 13 : 20-37.
109. **Nagwani S., Kumar M., Singh R., Tripathi B. Y.** 2010. Hepatotoxicity of tubers of Indian Kudzu (*Pueraria tuberosa*) in rats. Fd. Chem. Toxicol. 48 : 1066–1071.
110. **Neviere R.** 2009. Physiologie digestive. Département de Physiologie Faculté de Médecine de Lille.
111. **Onil S., Gaétan C., Lyse L., Sylvie M.** 2007. Document d'appui à la définition nosologique « Atteinte de systèmes consécutives à une exposition aux insecticides organophosphorés ou carbamates ». pp 13-14.
112. **Ouedraogo Y., Nacoulma O., Guissou I.P., Guede Gulna F.J.** 2001. Evaluation in vivo et in vitro de la toxicité des extraits aqueux d'écorces de tige et de racines de *Mitragyna inermis* (Willd.) O.Ktz (Rubiaceae). 1 : 13-29.
113. **Ouhayoun J., Thérèse A.** 1969. Etudes du caractère culard « Anatomie microscopique comparée du rein de males charolais normaux et culards ». 1 : 101- 108.
114. **Pal'tsev M.A., Stochik A.M., Zatravkin S.N.** 2008. Physiology and Its Teaching at Moscow University's Faculty of Medicine in the 18th Century. Herald of the Russian Academy of Sciences. 78:421–427.
115. **Palmarev E., Petrov S.** 1989. Atlas de Botanique, Narodna Prosveta, Sofia.
116. **Panneerselvam J., Kanakarajan S., Chandrakesan P.** 2009. Hepatoprotective activity of bacoside A against N-nitrosodiethylamine-induced liver toxicity in adult rats. Cell. Biol. Toxicol. 25:425–434.
117. **Pardeep S., Garg M.L., Dhawan D.K.** 2005. Time dependent study to evaluate the efficacy of zinc on hepatic marker enzymes and elemental profile in serum and liver of protein deficient rats. BioMetals. 18: 97–106.
118. **Patrick P.** 2004. Le Jilgré (*Datura stramonium*) Une plante hallucinogène, marqueur territorial en Bretagne morbihannaise. Ethnologie française. 3: 453-461.
119. **Paul M.W.** 2007. Pediatrics. Official Journal of the American Academy of Pediatrics. 109, e96
120. **Pérez-Martin A., Schuster I., Dauzat M.** 2007. Rudiments de Physiologie Rénale. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.
121. **Piva G., Morlacchini M., Pietri A., Fusari A., Corradi A., Piva A.** 1997. Toxicity of dietary scopolamine and hyoscyamine in pigs. Livestock Production Science. 51: 29-39.
122. **Plaa G.L., Hewitt W. R.** 1997. Toxicology of the liver, second edition. Pp: 444.
123. **Quetin-Leclereq J.** 2002. Le voyage insolite de la plante au médicament.
124. **Quezel P., Santa S.** 1963. La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. C.N.R.S. Paris.
125. **Ramiro E. T.** 2007. Essentials of Equine Renal and Urinary Tract Physiology. Vet. Clin. Equine. 23: 533–561.

Références bibliographiques

126. Raymond G., Michel A., Fernand B., Mirielle., Guy C., André P., Jean-Christophe P., Phillip S. 2004. Physiologie animale. ISBN-2-8041-4893-9.
127. Redlener J., Markenson D., Mchenzie R., DiMaggio C., Gershon. R., Grayson D., Hoven C., Madrid P., Morse S., Gregory T., Jeb W., Caravaglia K., Cummings K., Dunlop D., Gines S. 2004. Pediatric Expert Advisory Panel, National Center of Disaster Preparedness. Vol 1 N° 1.
128. Richard J. R., Adrian J. P., Nicholas J. W. 1991. Studies on the biosynthesis of tropane alkaloids in *Datura stramonium* L. transformed root cultures « 2. On the relative contributions of L-arginine and L-ornithine to the formation of the tropane ring ». *Planta* (1991)183 : 196-201.
129. Richard J. R., Elisabeth G. B., Michael J.C. R. 1991. Studies on the biosynthesis of tropane alkaloids by *Datura stramonium* L. transformed root cultures “3. The relationship between morphological integrity and alkaloid biosynthesis. *Planta*. 185: 385-390.
130. Rigalli A. Verónica E. D. L. 2009. Experimental Surgical Models in the Laboratory Rat. International Standard Book Number- 13: 978-1-4200-9326-1.
131. Rith W., Kantimane P., Apichat P. N. Kamkaen. 2009. Acute toxicity test of medicinal plants and herbal remedies of aphthous ulcer. *Healt. Res.* 23: 169-174.
132. Robertson D. 2005. Pharmacology of the Autonomic Nervous System. *Pharmacol.* 501 : 20-27.
133. Saissy. J. M., Ruttimann M. 1999. Intoxication par les Organophosphorés- Consensus d’actualisation SFAR- Médecine d’urgence-France
134. Sarfaraz K. M., Fazal U. R., Saifullah K. 2005. Germination of seeds of *Datura stramonium* L. Under different conditions (temperature and soil). *Gomal University J. Res.* 21: 45-49.
135. Sargent S. 2009. Liver diseases, an Essential guide for Nurses and Health care Professionals.
136. Satendra K. N., Monika B., Ramesh M., Asha M. 2007. Amelioration of beryllium induced alterations in hepatorenal biochemistry and ultramorphology by co-administration of tiferron and adjuvants. *J. Biomed. Sci.*14:331–345.
137. Sean M. B., Brandon K. W., James W. R., Steven E. A., Gerald M. 2006. Intramuscular Ophthalmic Homatropine vs. Atropine to Prevent Lethality in Rates with Dichlorvos Poisoning. *J. Med. Toxicol.* 2 : 156-158.
138. Senécal P. É. 1998, Intoxications atropiniques d'origine végétale au QUÉBEC ; Bulletin d'information toxicologique. 14, no 1.
139. Serge B. 1985. Révision accélérée en biochimie clinique. 2ème ed. Maloine, Paris.
140. Sharova E. G., Arinova Y. C., Abdilalimov O.A. 1976. Alkaloïde of *Hyoscyamusniger* and *Datura stramonium*. No. i, pp. 126-127.
141. Sharp E. P., La Regina C. M. 1998. The laboratory RAT., ISBN 0-8493-2565-1, pp 29.
142. Shorederet M. 1992. Pharmacologie des principes fondamentaux aux applications thérapeutiques. 2^{ème} éd. Slatkine. Genève. pp. 88-94.

Références bibliographiques

143. **Shu Man Tuo L.** 1994. *Datura Linnaeus*, sp. PLL: 179-1753, Flora of China, 17: 330.
144. **Shutskaya Zh. V., Shakhmatova E.I., Kuznetsova A.A., Yu. V. N.** 2008. The Role of the Kidneys in the Regulation of Osmolality and Concentrations of Cations in the Blood Serum in Hyperglycemia. *Hum. Physiol.* 34: 601–607.
145. **Sikuli S., Demeyer K.** 1997. Influence of the ion-composition of the medium on alkaloid production by « hairyroots » of *Datura stramonium*. *Plant Cell, Tissue Org. Cult.* 47: 261-267.
146. **Stéphan. P.** 2002. Les antimuscariniques.
147. **Suckow M. A., Weisbroth S. H., Franklin C. L.** 2005. The laboratory RAT. ISBN 13: 978-0-12-074903-3; pp 106.
148. **Suckow Mark A., Peggy D., Cory B.** 2001. The Laboratory mouse., ISBN: 0-8493-0322-2; pp 18.
149. **Tadeusz A.** 2007. Alcaloïdes – secrets of life alkaloid chemistry, biological significance, applications and ecological role pp105.
150. **Taiwo M. A., Hughes J. A., Akonah A.R.** 2006. Natural Infection of *Datura stramonium* L. by an unusual strain of pepper vein mottle virus Genus Potyvirus in Nigeria, pp 401-404.
151. **Tannis H. W., Eric S.S., Laurence Y. K.** 2007. Angel's Trumpet (*Datura stramonium*) poisoning and delirium in adolescents in Winnipeg, Manitoba: Summer 2006. *Paediatr. Child Health.* 13: 193–196.
152. **Tarloff J. B., Lawrence H.L.** 2004. Toxicology of the kidney, third edition. 1200 pp.
153. **Tazi A.** Pharmacologie du système nerveux autonome. Pp2
154. **Tran Thi L. M., Vu Thi D., Mignard B., Bito f., Fèvre J.P., Boitel-Conti M., Guckert A., Bui C.T., Bourgaud F., Gontier E.** 2006. Hydroponics as a model technology for producing plant root secondary metabolites. 20- 21, pp 188-191.??????
155. **Tursunova R. N., Maslennikova V.A., Abubakirov N.K.** 1976. Withanolides of *Datura stramonium*. No. 5, p. 670.
156. **Udem S. C., Obidoa O., Asuzu I.U.** 2009. Acute and chronic toxicity studies of *Erythrina senegalensis* DC stem bark extract in mice. DOI 10.1007/s00580-009-0852-5.
157. **Vassiliou A.** 2009. Directive 2009/124/CE de la commission du 25 septembre 2009, modifiant l'annexe de la directive 2002/32/CE du parlement Européen et du conseil en ce qui concerne les tumeurs maximales pour l'arsenic, la théobromine, *Datura spp*, *Ricinus Communis* L. *Croton tiglium* L. et *Abrus pericatorius* L.
158. **Vidal A.** 1996. Dictionnaire Vidal. 72^{ème} édition. Edition b du VIDAL. P. 1426.
159. **Villiers S.** 2009. Les Médicaments, pp 79.
160. **Witthawaskul P., Panthong A., Kanjanapothi D., Taesothikul T., Lertprasertsuke N.** 2003. Acute and subacute toxicities of the saponin mixture isolated from *Schefflera leucantha* Viguier. *J. ethnopharmacol.* 89: 115-121.
161. **Wurochekke A. U., Anthony A.E., Obidah W.** 2008. Biochemical effects on the liver and kidney of rats administered aqueous stem bark extract of *Xemenia americana*. *Afr. J. Biotechnol.* 16: 2777-2780.